

Optimierung der Nierentumorbiopsie durch verbesserte Entnahmetechnik und M-FISH Analyse

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades
doctor medicinae (Dr. med.)

**vorgelegt dem Rat der medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena**

von Aliaksei Chyhai
geboren am 24.05.1979 in Mogilew (Weißrussland)

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	5
Abbildungsverzeichnis	7
Tabellenverzeichnis	8
1 Zusammenfassung	9
2 Einleitung	10
2.1 Klinische Bedeutung des Nierenzellkarzinoms.....	10
2.1.1 Epidemiologie und Ätiologie.....	10
2.1.2 Symptomatik und rationale Diagnostik.....	11
2.2 Bedeutung der Nierentumorbiopsie.....	13
2.2.1 Historische Entwicklung der Nierenbiopsie.....	13
2.2.2. Klinische Relevanz der Nierentumorbiopsie.....	13
2.2.3 Risiken der Nierentumorbiopsie.....	14
2.3 Klinische und pathomorphologische Grundlagen der Nierentumorklassifikation.....	14
2.3.1 Morphologische Merkmale epithelialer Nierentumoren.....	17
2.3.1.1 Nierenzellkarzinom, klarzelliger Typ.....	17
2.3.1.2 Nierenzellkarzinom, chromophiler Typ (papillärer Typ).....	17
2.3.1.3 Nierenzellkarzinom, chromophober Typ.....	17
2.3.1.4 Nierenzelladenom, onkozytärer Typ (Onkozytom).....	18
2.3.1.5 Nierenzellkarzinom, Ductus-Bellini-Typ	18
2.3.2 Malignitätsgrad.....	19
2.3.3 pTNM-Klassifikation der UICC (2002).....	19
2.4 Genetik der Nierenzellkarzinome.....	21
2.4.1 Klarzellige Nierenzellkarzinome.....	21
2.4.1.1 Von-Hippel-Lindau-Syndrom.....	22
2.4.2 Papilläre Nierenzellkarzinome.....	23
2.4.3 Chromophobe Nierenzellkarzinome.....	24
2.4.4 Sammelrohrkarzinome (Ductus-Bellini-Karzinome).....	24
2.4.5 Nierenonkozytome.....	24
2.5 Multicolor Fluoreszenz in Situ Hybridisation-M-FISH.....	26
2.6 Klinische Bedeutung der genetischen Nierentumordifferenzierung.....	30

3	Zielstellung der Arbeit	31
4	Material und Methoden	32
4.1	Patientengut	32
4.2	Retrospektive Evaluierung der Nekrosehäufigkeit	32
4.3	Biopsieentnahme	34
4.4	Histopathologische Bewertung	35
4.5	M-FISH-Protokolle	36
4.5.1	Zellkernpräparation	36
4.5.1.1	Lösungen	36
4.5.1.2	Durchführung	36
4.5.2	Herstellung der Hybridisierungssonden	37
4.5.3	Vorbehandlung der Objektträger	37
4.5.3.1	Lösungen	37
4.5.3.2	Ablauf	37
4.5.4	Hybridisierung	38
4.5.4.1	Denaturierung der Probe	38
4.5.4.2	Denaturierung der Objektträger	38
4.5.5	Abwaschen	38
4.5.6	Auswertung, Dokumentation	38
5	Ergebnisse	40
5.1	Wo soll die Biopsie entnommen werden?	40
5.2	Histopathologische Ergebnisse der Nierentumoren in der postoperativen Gruppe	41
5.3	Histopathologische Ergebnisse der postoperativen Nierentumorbiopsien	42
5.4	Histopathologische Ergebnisse der Nierentumorbiopsien in der präoperativen Gruppe	46
5.5	Histopathologische Ergebnisse der Nierentumoren in der präoperativen Gruppe	47
5.6	M-FISH Ergebnisse in der postoperativen Gruppe	50
5.6.1	M-FISH Ergebnisse in der postoperativen pT1a Gruppe	50
5.6.2	M-FISH Ergebnisse in der postoperativen pT1b Gruppe	52
5.6.3	M-FISH Ergebnisse in der präoperativen Gruppe	55

5.7	Komplikationen nach Nierentumorbiopsie.....	60
5.8	Fallvorstellung.....	61
6	Diskussion	64
6.1	Wo soll die Biopsie entnommen werden?.....	65
6.2	Diskussion der histopathologischen Ergebnisse der Nierentumoren und der Nierentumorbiopsien in der postoperativen Gruppe.....	65
6.3	Diskussion der histopathologischen Ergebnisse von Nierentumorbiopsien und der Tumor-Resektate in der präoperativen Gruppe.....	67
6.4	Diskussion der M-FISH Ergebnisse in der postoperativen Gruppe.....	73
6.5	Diskussion der M-FISH Ergebnisse in der präoperativen Gruppe.....	75
6.6	Diskussion der Komplikationen nach Nierentumorbiopsie.....	79
7	Schlussfolgerungen	82
8	Literaturverzeichnis	84
9	Danksagung	96
10	Ehrenwörtliche Erklärung	97
11	Lebenslauf	98

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
AMCA	Aminomethylcoumarinessigsäure
BHD	Birt-Hogg-Dube
bzw.	beziehungsweise
Cut-off	Normwert
CT	Computertomogramm
CGH	comparative genomic hybridization (vergleichende genomische Hybridisierung)
Chr.	Chromosom
CCD	charge-coupled-device
ca.	cirka
CRP	C-reaktives Protein
DAPI	4'-6' diamidino-2-phenylindol
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DEAC	Diethylaminocoumarin-5-dUTP
eng.	englisch
FISH	Fluoreszenz-In-Situ-Hybridisierung
FSU	Friedrich-Schiller-Universität
FITC	Fluoresceinisothiocyanat
ggf.	gegebenenfalls
G1,G2,G3	Malignitätsgrade G1, G2, G3
HE	Hämatoxillin-Eosin
HCl	Salzsäure
ISH	In-Situ-Hybridisierung
ISIS	In-Situ-Imaging-System
KM	Kontrastmittel
L	links
M-FISH	Multicolor Fluoreszenz-In-Situ-Hybridisierung
MET	Proto-Onkogen
MRT	Magnetresonanztomographie
MW	Mittelwert
MgCl₂	Magnesiumchlorid

n	Anzahl
NZK	Nierenzellkarzinom
Nr.	Nummer
o.g.	oben genannte
pTNM	Tumorklassifizierung: T-Tumorausdehnung; N-befallene Lymphknoten; M-Metastasen
PBS	phosphate buffered saline (phosphat-gepufferte isotonische Kochsalzlösung)
PT	Puffertank
RCC	Renal cell carcinoma/Nierenzellkarzinom
RCA	renal cell adenoma (renal Zelladenoma)
RNA	Ribonukleinsäure
R	rechts
SSC	standard sodium citrate
sog.	so genannte
T1a, T1b	T-Tumorausdehnung: T1a-bis 4 cm; T1b-von 4 bis 7cm
TRITC	Tetramethylrhodaminisothiocyanat
Tb	Tuberkulose
Tween	Polyoxyethylensorbitanmonoaurat
Tab.	Tabelle
usw.	und so weiter
UICC	Union internationale Contre le Cancer
VHL	Von-Hippel-Lindau
vs.	versus (gegen)
WHO	World Health Organisation (Weltgesundheitsorganisation)
z.B.	zum Beispiel
z.T.	zum Teil
Σ	Anzahl der Biopsien

Abbildungsverzeichnis

- Abb. 1:** Schema FISH
- Abb. 2:** Untersuchungsschema-Untersuchungsgruppe, postoperativ
- Abb. 3:** Schema der Indikationen bei präoperativer Biopsie
- Abb. 4:** Untersuchungsschema-Untersuchungsgruppe, präoperativ
- Abb. 5a:** Nierentumorbiopsie: Ultraschallkopf mit aufgesetzter Biopsienadel; Lagerung des Patienten
- Abb. 5b:** Nierentumorbiopsie: sonographisches Bild, intraoperativ
- Abb. 6:** Häufigkeit von Nekrosen in Nierentumoren kleiner oder größer als 4cm
- Abb. 7:** Graphische Darstellung der Häufigkeit (%) der Tumorarten in der postoperativen Gruppe
- Abb. 8:** Histopathologische Ergebnisse der präoperativen Biopsiegruppe
- Abb. 9:** Fluoreszenzbilder eines Interphasekerns des Falls 3904
- Abb. 10:** Fluoreszenzbilder eines Interphasekerns des Falls 0705
- Abb. 11:** Fluoreszenzbilder eines Interphasekerns des Falls 3605
- Abb. 12:** Sonographische Darstellung der linken Niere bei einer 24-jährigen Patientin
- Abb. 13:** Doppler-Sonographische Darstellung der linken Niere
- Abb. 14:** Kontrastmittel-CT, linksseitiger Tumorverdacht

Tabellenverzeichnis

- Tab. 1:** Thoenes Klassifikation des Nierenzellkarzinoms
- Tab. 2:** Klassifikationsschemata epithelialer Nierentumoren, Vergleich WHO:UICC
- Tab. 3:** Inzidenz epithelialer Nierentumoren
- Tab. 4:** Genetische Merkmale der verschiedenen Tumortypen
- Tab. 5:** Die wichtigsten Ansätze der Genomanalyse mittels FISH
- Tab. 6:** Cut-Off-Wert der Fluoreszenzsignale im gesunden Nierengewebe
- Tab. 7:** Häufigkeit von Nekrosen in Abhängigkeit von der Tumorgroße
- Tab. 8:** Histopathologische Ergebnisse der untersuchten Nierentumoren in der postoperativen Gruppe
- Tab. 9:** Ergebnisse der postoperativen Gruppe mit einer Tumorgroße kleiner als 4 cm
- Tab. 10:** Ergebnisse der postoperativen Gruppe mit einer Tumorgroße größer als 4 cm
- Tab. 11:** Die histopathologischen Ergebnisse der postoperativ untersuchten Nierentumorbiopate
- Tab. 12:** Anzahl und Genauigkeit der postoperativen Biopsien bei Tumoren bis 4 cm und größer als 4 cm im Durchmesser
- Tab. 13:** Histopathologische Ergebnisse der untersuchten präoperativen Biopsien
- Tab. 14:** Histopathologische Ergebnisse der untersuchten Tumorpräparate in der präoperativen Gruppe
- Tab. 15:** Ergebnisse der präoperativen Gruppe
- Tab. 16:** M-FISH Ergebnisse der postoperativen Gruppe mit einer Tumorgroße kleiner als 4 cm
- Tab. 17:** Ergebnisse der postoperativen Gruppe mit einer Tumorgroße kleiner als 4 cm
- Tab. 18:** M-FISH Ergebnisse der postoperativen Gruppe mit einer Tumorgroße von mehr als 4 cm
- Tab. 19:** Ergebnisse der postoperativen Gruppe mit einer Tumorgroße von mehr als 4 cm
- Tab. 20:** M-FISH Ergebnisse der präoperativen Gruppe
- Tab. 21:** Ergebnisse der präoperativen Gruppe
- Tab. 22:** Literaturübersicht über Suffizienzrate, Spezifität und Sensitivität von Nierentumorbiopsien
- Tab. 23:** Literaturübersicht weltweit publizierter Fälle zur Tumorzellaussat nach Nierentumorbiopsie

1 Zusammenfassung

Trotz der Genauigkeit moderner bildgebender Verfahren bleibt bei ca. 90% der Patienten die Dignität von renalen Raumforderungen unklar (Smith 1991). Es existieren in den bildgebenden Methoden keine sicheren Unterscheidungskriterien zwischen Nierenzellkarzinom, Adenom und Onkozytom. Eine weitere Problematik ergibt sich aus dem steigenden Durchschnittsalter der Bevölkerung. Zunehmend häufiger werden bei älteren, multimorbiden Patienten kleine Tumoren entdeckt, bei denen sich die Frage nach der Notwendigkeit einer invasiven Therapie stellt. Die präoperative Abklärung der Dignität der renalen Raumforderungen ist nur mit Hilfe der Tumorbiopsie möglich. Die Wertigkeit der Nierentumorbiopsie bleibt im urologischen Fachgebiet noch immer umstritten. Ziel dieser Arbeit war deshalb die Bewertung der ultraschallgestützten Feinnadelbiopsie zur Sicherung der Diagnose von Raumforderungen der Niere. Neben der histologischen Bewertung erfolgte die genetische Analyse der Biopsiepräparate.

Feinnadelbiopsien sind postoperativ an 20 Tumornephrektomiepräparaten und präoperativ bei 25 Patienten mit sonographisch homogenem Erscheinungsbild durchgeführt worden. Von jeder Biopsie gelangten zwei Biopate zur histopathologischen Untersuchung. Bei postoperativen Biopsien sind jeweils zwei Proben, bei präoperativen Biopsien jeweils eine Probe mittels M-FISH untersucht worden. In der postoperativen Gruppe lag die Sensitivität der histopathologischen Untersuchung bei 90%. Dabei betrug die Spezifität 100%. Die M-FISH Analyse erbrachte 10% mehr diagnostische Sicherheit im Vergleich zur Histologie. Es ergab sich in o.g. Gruppe ebenfalls eine Spezifität von 100%. Alle präoperativ entnommenen Biopate waren zur weiteren Analyse suffizient. In der präoperativen Gruppe wurden 32% der Nierenläsionen als benigne Befunde klassifiziert. In 80% der Fälle erfolgte eine operative Therapie. Die Genauigkeit der histopathologischen Untersuchung bezüglich der Dignität lag bei 90%, die Spezifität bei 100%. Die genetische Untersuchung erbrachte 5,2% mehr diagnostische Sicherheit im Vergleich zur Histologie. Aus diesen Ergebnissen lässt sich ableiten, dass die ultraschallgestützte Nierentumorbiopsie ein relativ sicheres Verfahren zur Diagnosestellung bei unklaren renalen Raumforderungen darstellt. Die M-FISH erhöht die diagnostische Sicherheit am Biopsiematerial. Zukünftig sollte Patienten mit unklaren Raumforderungen an der Niere die Biopsie zur Überprüfung der Notwendigkeit einer operativen Therapie angeboten werden. Dabei kann die M-FISH zur Sicherung der Diagnose in der Routinediagnostik eingesetzt werden.

2 Einleitung

Das Nierenzellkarzinom ist die häufigste maligne Erkrankung der Niere (Brauch et al. 2000). Mit 2-3% aller soliden Malignome ist das NZK ein seltener Tumor. Pro Jahr ist in Deutschland mit etwa 8000 bis 11000 Neuerkrankungen zu rechnen (Störkel 1999), (Fischer 1999). Es ist der dritthäufigste urologische Tumor mit einer Inzidenz von ca. 5-8 pro 100 000 Männer in den meisten westlichen Ländern. Männer erkranken ungefähr 1,5-mal so häufig wie Frauen (Fischer 1999). Die altersbezogene Inzidenz steigt vom 35. Lebensjahr kontinuierlich an und erreicht zwischen der 5. und 6. Lebensdekade den Höhepunkt (80% aller Nierenzellkarzinome werden zwischen dem 40. und 69. Lebensjahr gefunden (Störkel 1999). In seltenen Fällen wurde ein Nierenzellkarzinom schon im Kleinkindalter beschrieben (Decker 2002). Durch den Einsatz moderner Diagnostikmethoden wird das NZK überwiegend zufällig ohne klinische Symptomatik entdeckt. Während die operative Therapie des lokal begrenzten Tumors sehr gute Ergebnisse aufweist, ist die Prognose von Patienten mit Metastasierung nach wie vor schlecht. Eine weitere Problematik ergibt sich aus dem steigenden Durchschnittsalter der Bevölkerung. Zunehmend häufiger werden bei älteren, multimorbiden Patienten kleine Tumoren entdeckt, bei denen sich die Frage nach der Notwendigkeit einer invasiven Therapie stellt. Die Dignität dieser Tumore kann durch die bildgebende Diagnostik nicht sicher festgestellt werden. In diesem Zusammenhang könnte die Biopsie der Raumforderungen zur Diagnosestellung hilfreich sein. Die Wertigkeit der Biopsie ist im urologischen Fachgebiet umstritten. Ziel dieser Arbeit war deshalb die Bewertung der Feinnadelbiopsie zur Sicherung der Diagnostik von Raumforderungen der Niere. Neben der histologischen Bewertung erfolgte die genetische Analyse der Biopsiepräparate.

2.1 Klinische Bedeutung des Nierenzellkarzinoms

2.1.1 Epidemiologie und Ätiologie

Die Ursache des NZK ist ungeklärt. Es werden sowohl chemische, physikalische, virale als auch hormonelle Mechanismen als auslösende Faktoren diskutiert (Auperin et al. 1994, Talamini et al. 1990, Yu et al. 1986, Asal et al. 1988, Dhote et al. 2000, Asal, Geyer et al. 1988, Handa und Kreiger 2002).

Man ist sich allerdings einig, dass Übergewicht und hormonelle Faktoren eine wesentliche Rolle bei der Entstehung spielen (Chow et al. 1996, Benhamou et al. 1993). Insbesondere

übergewichtige Frauen zeigen ein bis zu vierfach erhöhtes relatives Risiko für die Ausbildung eines Nierenzellkarzinoms. Prädisponierend für etwa 5% der Fälle ist die chronische Niereninsuffizienz (Fischer 1999). Inwieweit darüber hinaus die arterielle Hypertonie oder Antihypertensiva bzw. Diuretika einen eigenständigen prädominierenden Effekt haben, kann nicht geklärt werden (Fischer 1999). Aufgrund der steigenden Inzidenz in industrialisierten Ländern in Vergleich zu der niedrigen Inzidenz in Dritte-Welt-Ländern lässt sich vermuten, dass Umwelteinflüsse bei der Entstehung des NZK kritische Faktoren darstellen. Die Nierenzellkarzinome treten sowohl sporadisch als familiär auf. Das seltene familiäre NZK tritt in Verbindung mit dem von Hippel-Lindau-Syndrom auf (Kovacs 1993), aber auch andere vererbte Formen sind bekannt.

2.1.2 Symptomatik und rationale Diagnostik

In den Frühstadien ist das Nierenzellkarzinom ein asymptomatischer Tumor. Nur in 10% der Fälle erfolgt die Diagnose aufgrund der klassischen Symptomentrias von Flankenschmerz, Hämaturie und palpablem Flankentumor. Durch die klinische Untersuchung können nur große, die Gerota-Faszie überschreitende Tumoren diagnostiziert werden. Bei ca. 60% der Patienten sind entweder eine Makrohämaturie oder eine Mikrohämaturie zumindest periodisch nachweisbar. Jedoch ist ein unauffälliges Urinsediment keinesfalls als Ausschlusskriterium zu werten (Tosaka et al. 1990). Bei Patienten im Spätstadium können Beschwerden seitens der Metastasen (Knochenschmerzen) oder paraneoplastischer Syndrome wie Hyperkaliämie (etwa 10 bis 12%), Erhöhung der alkalischen Phosphatase, erhöhte Serumkonzentration von Enteroglukagon und Prolaktin, Parathormon, α -Fetoprotein oder humanes Choriongonadotropin zur Diagnose führen (Decker 2002). Darüber hinaus können auch subfebrile Temperaturen, Gewichtsabnahme, erhöhte Blutsenkungsgeschwindigkeit, Nachtschweiß und Anämie sowie in 10% der Fälle Polyglobulie auftreten. Trotz dieses „bunten Bildes“ gibt es keinen Tumormarker, der sich wie bei anderen urologischen Tumoren (Hodenkarzinom und Prostatakarzinom), zur Verlaufsbeurteilung bzw. zur Diagnosesicherung eignet.

Durch den flächendeckenden Einsatz moderner bildgebender diagnostischer Verfahren, insbesondere der Sonographie, werden heute bis zu 70% der Nierentumoren in asymptomatischen Stadien diagnostiziert. Zur Diagnostik renaler, raumfordernder Prozesse ist die Ultraschalluntersuchung eine der wichtigsten Untersuchungsmethoden. Die Sonographie ist ein nicht-invasives Verfahren ohne Nebenwirkungen und weist eine relativ hohe Sensitivität bei erfahrenen Untersuchern auf. Mit fast 100%iger Sicherheit ist es

möglich, zwischen einer klassischen Zyste und einem soliden Tumor zu differenzieren. Aslaksen et al. untersuchten 1306 Patienten und stellten fest, dass die Sensitivität der Ultraschalluntersuchung bezüglich der Entdeckung renaler Raumforderung bei 91% lag. Die Spezifität betrug in dieser Studie 96% (Aslaksen et al. 1990). Nahezu unmöglich ist jedoch die Unterscheidung zwischen benignen und malignen Nierenläsionen, zum Beispiel die Differenzierung zwischen Onkozytom und Nierenzellkarzinom (Smith 1991).

Die Computertomographie kann zu über 90% einer Raumforderung der Niere diagnostizieren. Trotz der Genauigkeit der CT in Verbindung mit Ultraschall, bleibt bei ca. 90% der Patienten die Dignität der Raumforderungen unklar (Smith 1991). Es existieren keine sicheren Unterscheidungskriterien zwischen Nierenzellkarzinom, Adenom und Onkozytom in den bildgebenden Verfahren. Die präoperative Abklärung der Dignität der renalen Raumforderungen ist nur mit Hilfe der Tumorbiopsie möglich. Die Feinnadelbiopsie des Tumors ist die einzige Untersuchungsmethode, die in der Lage ist, vor einer operativen Exploration mit Schnellschnittuntersuchung Aussagen zum histologischen Typ und zum Malignitätsgrad und somit zur Dignität zu liefern. Die histopathologische Diagnose der Nierentumore ist maßgebend für die Therapieentscheidung. Außerdem kann die Feinnadelbiopsie der Nierentumore bei nicht operablen Patienten Hinweise auf das mögliche Ansprechen einer Immunchemotherapie liefern und die Frage klären, ob ältere, multimorbide Patienten mit kleinen Tumoren von einer Operation profitieren. Weiterhin kann die perkutane Biopsie bei Patienten mit einer disseminierten Metastasierung zur Klärung des Primärtumors beitragen.

Die Wertigkeit der Biopsie zur Abklärung der renalen Raumforderungen wird nach wie vor kontrovers diskutiert.

Dafür lassen sich folgende Gründe nennen:

1. Niedrige Treffsicherheitsquote durch unzureichende bildgebende Darstellung
2. Niedrige Diagnosesicherheitsquote durch mangelhaftes Bereitstellen von Biopsiematerial (Jocham und Miller 1994) bzw. durch unsichere pathologische Befundung
3. Mögliche Risiken bzw. Nebenwirkungen der Biopsie im Sinne von (sehr seltenen) transfusionspflichtigen renalen Hämorrhagien, Hämatombildung (perirenal oder subkapsulär), postbiopsischen Schmerzen, Nachbarorganenverletzungen
4. Onkologische Risiken: Auftreten sog. Stichkanalmetastasen

2.2 Bedeutung der Nierentumorbiopsie

2.2.1 Historische Entwicklung der Nierenbiopsie

Seit der Einführung der Nierenbiopsie im Jahre 1934 durch Ball zur Abklärung der verschiedenen Nierenerkrankungen sind bis heute mehrere verschiedene Techniken entwickelt worden (Bach et al. 1999). Die perkutane Nierenbiopsie ist eine Standardprozedur zur Evaluierung renaler parenchymaler Erkrankungen (Preda et al. 2003). Die Feinnadelaspirationsbiopsie wurde zur Abklärung unklarer renaler Läsionen im Jahre 1970 eingeführt (Kristensen et al. 1972). Seit der Einführung der ultraschallgestützten Biopsie ist diese im Vergleich zur präsonographischen Ära leichter durchführbar und sicherer geworden (Parrish 1999). Der nächste Schritt in die Zukunft war die Entwicklung von Biopsiegeräten, sog. „automated spring-loaded biopsy“ (Burstein et al. 1993).

Zur Abklärung der unklaren renalen Raumforderungen wird meistens eine Aspirations- bzw. Stanz-Biopsie benutzt.

2.2.2 Klinische Relevanz der Nierentumorbiopsie

Die vordergründige klinische Bedeutung der präoperativen Nierentumorbiopsie liegt in der Möglichkeit, die relativ seltenen benignen Nierentumoren, die zur Zeit jeglicher präoperativer Diagnostik entgehen (CT, MRT und Sonographie), minimalinvasiv diagnostizieren zu können. Der davon betroffene Patientenanteil, der bei ca. 10 – 15% liegt (Smith 1991) wird unmittelbar von der perkutanen Gewebeentnahme profitieren können. In Europa ist dieser seit längerer Zeit bekannte diagnostische Ansatz bis dato kaum verfolgt worden, da die Biopsie mit einer hohen Fehlerrate verbunden war. Diese ist sowohl auf die verwendeten Biopsie-Sets, aber insbesondere auch auf Probleme hinsichtlich der sicheren sonographischen Darstellung kleinerer Tumorherde und deren sichere Punktion zurückzuführen.

In den letzten Jahren sind diesbezüglich deutliche technologische Fortschritte gemacht worden. So ist es aktuell möglich, auch aus kleinen, isodensen Raumforderungen der Nieren unter Doppler-sonographischer Bildgebung Gewebeproben zu entnehmen. In einer jüngeren Studie (Neuzillet et al. 2004) mit der größten Patientenserie (n=88) lag die Rate nicht verwertbarer Biopsate bei 3,4%. Aus den Ergebnissen dieser Pilotstudien lässt sich ableiten, dass in einer nicht selektierten Patientengruppe mit Nierentumoren bis 4 cm Größe, einer von acht bis zehn Patienten ein benignes Tumorleiden aufweist. Eine deutlich kleinere Patientengruppe mit klinisch manifester Metastasierung und/oder einem Zweittumor kann von der Tumorbiopsie profitieren, da sich die Behandlungsansätze von Malignom zu Malignom

zum Teil erheblich unterscheiden und selbstverständlich im Zusammenhang mit dem Allgemeinzustand des Patienten und dessen Prognose gewählt werden müssen.

Schließlich könnte die genetische Charakterisierung von Biopaten, wie bereits abgeschlossene Projekte an der Urologischen Universitätsklinik Jena belegen (Junker et al. 2003, Sanjmyatav et al. 2005), durchaus bei der Beurteilung der Biopsiezylinder nützlich sein, insbesondere dann, wenn die klassische Histopathologie keine verwertbaren und/oder indifferente Ergebnisse erbringt.

2.2.3 Risiken der Nierentumorbiopsie

Folgendes Komplikationsspektrum der Nierentumorbiopsie ist zu benennen:

1. Risiken bzw. Nebenwirkungen der Biopsie im Sinne von transfusionspflichtigen renalen Hämorrhagien, Hämatombildung (perirenal oder subkapsulär), postbiopsischen Schmerzen, Nachbarorganenverletzungen
2. “Onkologische“ Risiken: Auftreten sog. Stichkanalmetastasen.

Das Risiko bzw. das Nebenwirkungsspektrum einer Nierentumorbiopsie ist insgesamt als gering einzuschätzen. Innerhalb von 17 Jahren sind weltweit nur Einzelfälle mit Tumorzellaussaat nach Nierentumorbiopsie beschrieben worden (Gibbons et al. 1977, Auvert et al. 1982, Wehle und Grabstald 1986, Kiser et al. 1986, Shenoy et al. 1991, Abe et al. 1992, Slywoczky et al. 1994). Dabei sollte beachtet werden dass es sich hierbei ausschließlich um das Verfahren der Aspirationsbiopsie handelte. Weltweit sind keine Fälle von Stichkanalmetastasen nach Stanzbiopsie des Nierentumors beschrieben worden.

2.3 Klinische und pathomorphologische Grundlagen der Nierentumorklassifikation

Das Nierenzellkarzinom wurde bereits im frühen 19. Jahrhundert beschrieben und sein Ursprung dem tubulären Epithel zugeordnet. Zunächst setzte sich 1883 die Theorie von Grawitz durch, dass das Nierenzellkarzinom aus ektopen adrenalen Zellen im Nierengewebe abzuleiten sei, da sich die Karzinomzellen in ihrem Fettgehalt nicht von Zellen der Nebenniere unterscheiden. In der älteren Literatur wird daher das Nierenzellkarzinom auch als Grawitz-Tumor oder Hypernephrom bezeichnet (Decker 2002). 1981 wurde eine neue WHO-Klassifizierung erstellt, diese unterschied zwischen benignen (Adenome) und malignen (Karzinome) Nierenzelltumoren. Basierend auf zytologischen und histologischen Kriterien brachten die grundlegenden Arbeiten von Thoenes et al. Mitte der 80er Jahre einen neuen

Impuls für eine morphologische Nierentumorklassifikation. Dieses Klassifikationssystem ermöglicht eine Einteilung in Subtypen und die histogenetische Zuordnung unter Berücksichtigung elektronenmikroskopischer und immunhistologischer Befunde. Diese Klassifikation umfasst 5 Grundzellgruppen, 5 Wachstumsformen und 3 Differenzierungsgrade (Thoenes et al. 1986, Ziegler 1991, Gettman und Blute 2002, Decker 2002, Gunia et al. 2004).

Tab. 1: Thoenes Klassifikation des Nierenzellkarzinoms

Grundzelltyp	Wachstumsmuster	Differenzierungsgrad
klarzellig chromophil chromophob Duct-Bellini-Karzinom Onkozytom	tubulär zystisch tubulo-papillär azinär solide/kompakt	Grad 1 (gut differenziert) Grad 2 (mäßig differenziert) Grad 3 (schlecht differenziert)

In der neuen WHO-Klassifizierung wurden die histologischen Merkmale (azinär, zystisch, papillär und solid) sowie die zytologischen Merkmale (klar, granulär, Onkozyten, pleomorph und spindelförmig) berücksichtigt.

1998 legten die WHO in Zusammenarbeit mit der Union Internationale Contre le Cancer und dem American Joint Committee on Cancer eine aktualisierte Klassifikation vor (Störkel 1999). Im Vergleich zur WHO-Klassifikation (1998) gibt es in der neuen Klassifikation der UICC kein Nierenzellkarzinom vom granulären Typ. Dies begründet sich darin, dass granuläre (eosinophile) Zellformen bei nahezu allen Subtypen der Nierentumoren gefunden werden. Das spindelzellige Nierenzellkarzinom wird ebenfalls nicht als eigenständige Entität aufgefasst, da alle Nierenzellkarzinome im Laufe ihrer Entdifferenzierung einen spindelförmigen Phänotyp annehmen können.

Tab. 2: Klassifikationsschemata epithelialer Nierentumoren, Vergleich WHO:UICC

WHO (1981)	New Classification (UICC)	WHO (1998)
Renal cell adenoma	RCA, metanephric type RCA, papillary type (chromophil) RCA, oncocytic type	metanephric adenoma tub-pap adenoma oncocytic adenoma
Renal-cell carcinoma	RCC, clear cell type RCC, papillary type (chromophil) RCC, chromophobe type RCC, collecting duct type RCC, neuroendocr. type RCC, unclassified	clear cell carcinoma papillary carcinoma chromophobe carcinoma collecting duct carcinoma granular cell carcinoma spindle cell carcinoma cyst associated carcinoma

Aufbauend auf dieser neuen Klassifikation ergeben sich für die verschiedenen Subtypen der epithelialen Nierentumoren folgende Inzidenzen (Störkel 1999).

Tab. 3: Inzidenz epithelialer Nierentumoren

Tumortyp	Häufigkeit
Klarzelliges Nierenzellkarzinom	(73%)
Papilläres (chromophiles) NZK, eosinophil, basophil	(12%)
Onkozytäres Adenom	(5%)
Chromophobes NZK	(5%)
Sammelgang-Karzinom (Ductus-Bellini Karzinom)	(<1%)
Urothelkarzinom (intrarenal)	(<1%)
Neuroindokrine Tumoren (karzinoid, neuroektodermaler Tumor)	(<1%)
Metanephrogenes (embryonales) Adenom	(<1%)
Spindelzellig-pleomorphes NZK	(<1%)
Unklassifiziertes NZK	(3-5%)

2.3.1 Morphologische Merkmale epithelialer Nierentumoren

2.3.1.1 Nierenzellkarzinom - klarzelliger Typ

Makroskopie: Vielknotige Tumormassen mit breitem Farbspektrum, zumeist gelber Schnittfläche (hochdifferenzierter Tumoranteil), vereinzelte graue oder weiße Tumorherde (wenig- bzw. undifferenzierte Tumoranteile), meist solide, selten zystisch, Zysten von 2-3 cm Durchmesser. Bei Tumorregression - weiße, vernarbte Septen bzw. herdförmige Kalzifikationen bzw. unregelmäßige Tumornekrosen z.T. mit ausgedehnten Einblutungen.

Mikroskopie: Grundtyp: Zytoplasma (im HE-Schnitt) transparent, "leer" infolge präparatorisch bedingter Herauslösung übermäßig gespeicherten Glykogens, aber auch Lipids (tumorbedingter Defekt des Glykogenstoffwechsels). Eosinophile Variante(n): Durch Vermehrung von Mitochondrien und endoplasmatischem Retikulum mehr oder weniger starke Zunahme von Eosinophilie (Granulierung) im Zytoplasma unter successiver Verringerung des Glykogengehaltes (Cheville et al. 2003, Decker 2002).

2.3.1.2 Nierenzellkarzinom - chromophiler Typ (papillärer Typ)

Makroskopie: runde Form, gehäuftes multifokales Auftreten. Adenome - wenige Millimeter groß, beige- gelegentlich auch weißfarben. Karzinome - größere Tumore mit krümeliger brauner z.T. fein glitzernder Schnittfläche bei mangelnder Gefäß-/Blutversorgung mit konsekutiver Nekrose und Hämorrhagie (Störkel 1999).

Mikroskopie: relativ kleine Zellen mit (im HE-Schnitt) gefärbtem Zytoplasma (daher: "chromophil"), wenig Mitochondrien. Färberischer Eindruck: basophil (eng stehende Kerne). - Eosinophile Variante: Durch Vermehrung von Mitochondrien Vergrößerung und Granulierung des Zytoplasmas bis hin zu onkozytenähnlichem Bild. Bei ausgeprägter Lipideinlagerung - helles feinvakuoläres Zytoplasma (Cheville et al. 2003, Decker 2002).

2.3.1.3 Nierenzellkarzinom - chromophober Typ

Makroskopie: Abhängig von der Tumorgroße ein oder mehrere solide Knoten mit leicht undulierter Oberfläche. Hauptcharakteristikum: gleichmäßige orangefarbene (unfixierte) bzw. beigefarbene (fixierte) Schnittfläche durchsetzt mit einzelnen Blutungsherden (Störkel 1999).

Mikroskopie: Meist relativ großleibige Zellen mit (im HE-Schnitt) transparentem (= chromophob) fein-retikulärem Zytoplasma, kaum Glykogen und relativ wenig Mitochondrien, aber massenhaft "invaginierte Bläschen", wie sie normalerweise in Schaltzellen des kortikalen Sammelrohres vorkommen. Hale'sche Eisenkolloidreaktion positiv.

Eosinophile Variante: Vermehrung von Mitochondrien führt zu mehr oder weniger starker Eosinophilie/Granularität; Im Extremfall Bilder ähnlich einem Onkozytom (Verwechslungsmöglichkeit). Das Wachstumsmuster: überwiegend kompakt, z.T. tubulär oder cribriform, selten zystisch (Cheville et al. 2003).

2.3.1.4 Nierenzelladenom, onkozytärer Typ (Synonym: Onkozytom)

Makroskopie: solitär, in seltenen Fällen multiple, runde, leicht lobulierte solide Tumore mit brauner Schnittfläche und zentraler sternförmiger Narbe (nur bei größeren Tumoren). Oberfläche lobuliert, nie Nekrosen, gelegentlich Einblutungen und schwammartige Schnittfläche (Störkel 1999).

Mikroskopie: Überwiegend großleibige Zellen mit stark eosinophilem/granulärem Zytoplasma, angefüllt mit kristareichen Mitochondrien. Häufig Mehrkernigkeit/Doppelkernigkeit als Ausdruck einer Zellteilungsstörung.

Wachstumsmuster: solide und trabekulär, stellenweise nestartig. Von differentialdiagnostischer Bedeutung: Peritumoral und zentral radiär verlaufende Blutgefäße sowie im Tumor eingeschlossene ortsständige Tubuli (Cheville et al. 2003, Decker 2002).

2.3.1.5 Nierenzellkarzinom, Ductus-Bellini-Typ (Sammelgang-Karzinom)

Makroskopie: zumeist große Tumore, die ihren Ausgang von der Medulla oder zentralen Abschnitten der Niere nehmen mit Infiltration in das perirenale Fettgewebe und das Nierenbecken. Weißfarbene, feste, gelegentlich von Nekrosen durchsetzte, unscharfe Schnittfläche, peritumoral häufig Satellitenknoten als Ausdruck einer massiven Angioinvasion. Regionale Ausdehnung: Nebenniere und Lymphknoten (fast immer) (Störkel 1999).

Mikroskopie: Basiszelltyp gekennzeichnet durch eine starke Polymorphie und Anaplasie, beträchtliche Variationen von Zellform und -größe, reichlich endoplasmatisches Retikulum und lang gestreckte Zellmembranen ohne Interdigitationen und Invaginationen - Verwandtschaft zu den Prinzipalzellen des Sammelgangs offenkundig.

Wachstumsmuster: zumeist tubulär bzw. mikrozystisch, selten pseudopapillär und solide in Verbindung mit einer intensiven Desmoplasie und Infiltration mit neutrophilen Granulozyten. Abzugrenzen sind eine sog. juvenile, hochdifferenzierte Form und eine hochaggressive assoziiert mit einer Sichelzellanämie.

2.3.2 Malignitätsgrad

Das Grading wird durch den Grad der Kernatypien bestimmt. Nach Syrjän und Hjelt (Syrjanen und Hjelt 1978) können 4 Kerngrade bestimmt werden:

Grad 1

- rundliche Kerne ungefähr gleicher Größe
- feine Chromatinstreifen
- unauffällige Nucleoli
- wenige Mitosefiguren

Grad 2

- Tendenz zu rundlichen Kernen, z. T. Anisonucleose
- raues, klumpiges Chromatin, geringe Hyperchromasie
- unterschiedliche, häufig irreguläre Nucleoli
- vereinzelt pathologische Mitosefiguren

Grad 3

- auffällige Anisonucleose
- raues, klumpiges Chromatin, deutliche Hyperchromasie
- viele pathologische Mitosefiguren

Grad 4

- vollständige Anisonucleose
- grobes, klumpiges Chromatin erweckt Anschein der Hyperchromasie
- große, irreguläre Nucleoli
- zahlreiche pathologische Mitosefiguren

2.3.3 pTNM-Klassifikation der UICC (2002)

Mit der aktuellen pTNM-Klassifikation der UICC von 2002 werden die Tumorausdehnung (T), regionäre Lymphknotenmetastasen (N) und Fernmetastasen (M) erfasst.

T-Kategorie (Primärtumor)

- Tx** Primärtumor kann nicht beurteilt werden
- T0** Kein Anhalt für Primärtumor
- T1** Tumor 7 cm oder weniger in größter Ausdehnung, begrenzt auf die Niere
- T1a** Tumor 4 cm oder weniger in größter Ausdehnung
- T1b** Tumor mehr als 4 cm, aber nicht mehr als 7 cm in größter Ausdehnung
- T2** Tumor mehr als 7 cm in größter Ausdehnung, begrenzt auf die Niere
- T3** Tumor breitet sich aus bis in die Hauptvenen oder infiltriert die Nebenniere oder das perirenale Fettgewebe, aber nicht außerhalb der Gerotaschen Faszie
- T3a** Tumor infiltriert die Nebenniere oder das perirenale Fettgewebe, aber nicht jenseits der Gerotaschen Faszie.
- T3b** makroskopische Tumorausdehnung in die Vena renalis oder Vena cava unterhalb des Zwerchfells
- T3c** makroskopische Tumorausdehnung in die Vena cava oberhalb des Zwerchfells
- T4** Tumorerinfiltration jenseits der Gerotaschen Faszie

N-Kategorie (Lymphknoten)

Regionale Lymphknoten sind die hilären, paraaortalen und paracavalen Lymphknoten.

Kontralateraler Befall hat keinen Einfluss auf die N-Kategorie

- Nx** Regionale Lymphknoten können nicht beurteilt werden
- N0** Kein Anhalt für regionäre Lymphknoten
- N1** Metastasen in einem regionären Lymphknoten

M-Kategorie (Fernmetastasen)

- Mx** Fernmetastasen können nicht beurteilt werden
- M0** keine Fernmetastasen
- M1** Fernmetastasen

2.4 Genetische Merkmale der Nierenzellkarzinome

Durch die intra- und intertumorale morphologische Heterogenität der Nierenzellkarzinome ist eine Diagnose nach zytologischen Kriterien nicht immer sicher möglich. Um die phänotypische Heterogenität umgehen zu können, wurden Nierenzelltumoren nach genetischen Merkmalen charakterisiert. Hier kommt jedem Tumortyp ein spezifisches chromosomales Aberrationsmuster zu (Linehan et al. 1993).

Die Heidelberg-Klassifizierung beruht auf der Spezifität grundlegender genetischer Alterationen, die mit der Entstehung bestimmter Tumortypen und während der gesamten Tumorprogression in den Tumorzellen konstant erhalten bleiben (Kovacs et al. 1997, Störkel et al. 1997).

Heidelberg-Klassifizierung der Nierenzelltumore

maligne Tumoren:

- Konventionelles Nierenzellkarzinom
- Papilläres (chromophiles) Nierenzellkarzinom
- Chromophobes Nierenzellkarzinom
- Sammelrohrkarzinom
- nicht klassifizierbare Nierenzellkarzinome

benigne Tumoren:

- Metanephrogenes Adenom
- Papilläres Adenom
- Nierenonkozytom

2.4.1 Klarzellige Nierenzellkarzinome

Klarzellige Nierenzellkarzinome machen ca. 75-80% der NZK aus (Kovacs 1999). Sie treten sowohl sporadisch als auch hereditär auf. Eine Deletion der 3p-Region kommt bei über 90% der klarzelligen NZK vor (Kovacs et al. 1997, Kovacs 1999). Somit charakterisiert ein Allelverlust am kurzen Arm des Chromosoms 3 klarzellige NZK und stellt gleichzeitig den Tumorsuppressorgenlocus für diesen Tumortyp dar. Bisher konnte hier als einziges Tumorsuppressorgen das VHL-Gen identifiziert werden. Die Lokalisation des VHL-Gens wird im Bereich 3p25-26 definiert (Pack et al. 1999, Latif et al. 1993).

Als weitere Regionen für Tumorsuppressorgene bei den sporadischen Formen sind die Regionen 3p21-22 und 3p13-14 zu nennen. Die am häufigsten verloren gegangenen Chromosomenabschnitte sind 3p12-14, 3p21, 3p25-26 (van den Berg et al. 1997). Hinzu kommen Allelduplikationen am Region 5q und Chromosom 7 sowie Allelverlust an den Regionen 6q, 8p, 9p und 14q (van den Berg et al. 1993, Velickovic et al. 1999, Kovacs et al. 1993, Kovacs 1994, Linehan et al. 2003a).

Ein Verlust dieser chromosomalen Regionen scheint mit der Tumorprogression verbunden zu sein (Buentig und Störkel 2002).

2.4.1.1 Von-Hippel-Lindau-Syndrom

Das VHL-Syndrom ist eine autosomal-dominant vererbte Erkrankung, die mit einer Häufigkeit von etwa 1:36 000 vorkommt. Dieses ist charakterisiert durch:

- *Angiomas retinæ*
- *zerebelläre und spinale Hämangioblastome*
- *Pankreaszysten*
- *klarzellige Nierenzellkarzinome*
- *Phäochromozytome*
- *Nierenzysten*

Das VHL-Gen wurde 1993 vollständig identifiziert und in der Region 3p25-26 lokalisiert (Zbar et al. 1999, Latif et al. 1993, Seizinfer et al. 1991).

Eine Keimbahnmutation des VHL-Gens ist mit einem hohen Risiko für die Entstehung multipler, bilateraler Nierenzysten und klarzelliger NZK (Typ 1), sowie für die Entwicklung multipler Hämangioblastome und Phäochromozytome (Typ 2) im Zusammenhang mit dem VHL-Syndrom verbunden (Maher et al. 1991a, Linehan et al. 2003b). Der Genträger für das VHL-Syndrom können in den Nieren sowohl benigne Zysten als auch Nierenzellkarzinome entwickeln. Etwa 76% der Patienten entwickeln Zysten und 24-28% Karzinome. Wichtige und charakteristische Merkmale der renalen VHL-Läsionen sind ihre Multilokalität und das bilaterale Auftreten (Decker et al. 1996, Decker 2002, Phillips et al. 2001a, Phillips et al. 2001b).

Die Nierenzellkarzinome beim VHL-Syndrom sind offensichtlich weniger aggressiv als die sporadischen NZK (Neumann et al. 1998). Es wurde ein langsames Wachstum beobachtet, Metastasen traten erst ab einer Tumorgröße von 7 cm auf und das tumorspezifische Überleben war signifikant länger als bei Patienten mit sporadischen Tumoren. Solide Tumorbildungen

sollten deshalb möglichst organerhaltend operiert werden da auch mit Tumoren in der kontralateralen Niere gerechnet werden muss.

Nicht alle vererbten klarzelligen Nierenzellkarzinome sind auf Mutationen im VHL-Gen zurückzuführen. Hierzu zählen die selteneren Nierentumoren bei Patienten mit einer konstitutiven Translokation unter Beteiligung des Chromosoms 3 mit anderen Chromosomen (6, 8, 11,12) (Cohen et al. 1979, Maher et al. 1991b, Pathak et al. 1982, Wang et al. 1984). Anders als beim VHL-Syndrom werden hier keine weiteren Tumore oder Fehlbildungen beobachtet. Es gilt als sicher, dass weitere erbliche Formen des klarzelligen NZK existieren, bei denen weder ein VHL-Syndrom noch chromosomale Translokationen vorliegen. Die verantwortlichen Genveränderungen sind noch nicht bekannt (Junker 2003).

2.4.2 Papilläre Nierenzellkarzinome

Papilläre NZK sind mit etwa 10-15% der zweithäufigste Subtyp (Buentig und Störkel 2002). Diese sind im Gegensatz zu klarzelligen NZK nicht durch Allelverlust, sondern durch Allelduplikationen spezifischer chromosomaler Abschnitte gekennzeichnet. Die häufigsten Alterationen stellen Zugewinne der Chromosomen 7, und 17 sowie den Verlust des Y-Chromosoms bei männlichen Patienten dar, bei fortgeschrittenen Tumoren finden sich Zugewinne der Chromosomen 3, 12, 16, 20 (Jiang et al. 1998, Junker et al. 2003, Kovacs et al. 1997, Kovacs et al. 1993).

Papilläre (chromophile) Nierenzelladenome weisen eine Trisomie des Chromosoms 7 und eine Tri- bzw. Tetrasomie 17 auf. Es wurde auch vererbten Formen der papillären Nierenzellkarzinome beschrieben. Diese Nierenzellkarzinome treten isoliert ohne weitere Fehlbildungen auf. Es werden sehr häufig multifokale und bilaterale Tumore beschrieben, dass durchschnittliche Erkrankungsalter liegt bei 52 Jahren (Zbar et al. 1995).

Es liegt ein autosomal-dominanter Erbgang mit verminderter Penetranz (60%) vor. Durch Kopplungs- und Sequenzanalysen in betroffenen Familien wurde gezeigt, dass das verantwortliche Gen auf dem Chromosom 7 in der Region 7q31-q34 lokalisiert ist und hier Mutationen im MET-Onkogen vorliegen. Missense- Mutationen in der Tyrosinkinase-Domain dieses Protoonkogens führen zur konstitutionellen Aktivierung des MET-Proteins und damit zur Entstehung der papillären Nierentumore (Schmidt et al. 1997). Auch bei diesen Tumoren sollte zum Funktionserhalt möglichst organerhaltend operiert werden, da die Tumore bilateral auftreten. Durch Herring et al. wurde gezeigt, dass dies bis zu einer Tumorgöße von 3 cm ohne erhöhtes Risiko für eine Metastasierung möglich ist (Herring et al. 2001).

2.4.3 Chromophobe Nierenzellkarzinome

Die chromophoben NZK (5%) sind durch multiple Verluste der ganzen Chromosomen 1, 2, 6, 10, 13, 17 und 21 gekennzeichnet (Kovacs et al. 1997, Speicher et al. 1994, Schwerdtle et al. 1996). Durch den Verlust mehrerer Chromosomen kommt es bei chromophoben NZK zu einem hypodiploiden Karyotyp (Gunawan et al. 1999, Phillips et al. 2001b). Hereditäre Form beim chromophoben Nierenzellkarzinom sich durch das Burt-Hogg-Dube-Syndrom mit einer Inzidenz unter 1% auszeichnet (Roth et al. 1993, Störkel et al. 2002). Das Burt-Hogg-Dube-Syndrom stellt eine autosomal dominante Hauterkrankung dar, die zusätzlich durch Trichofollikulome, Trichodiskome und Lungenzysten gekennzeichnet ist (Toro et al. 1999). Im Zusammenhang mit o.g. benignen Haarfollikeltumoren besteht ein erhöhtes Risiko renaler Neoplasien und der Ausbildung eines spontanen Pneumothorax (Pavlovich et al. 2002). Das BHD-Gen wurde auf dem kurzen Arm von Chromosom 17 lokalisiert und wird zurzeit hinsichtlich seiner Funktion weiter abgeklärt (Nickerson et al. 2002, Nagy et al. 2004, Störkel et al. 2002).

2.4.4 Sammelrohrkarzinome (Ductus-Bellini-Karzinome)

Die histologische Diagnose der Ductus-Bellini-Karzinome ist aufgrund der Seltenheit und der erheblichen morphologischen Heterogenität häufig unsicher. Frühere Mitteilungen wiesen eine Monosomie der Chromosome 1, 6, 14, 15, und 21 auf, während eine Aberration an den Chromosomen 8p- und -13 von anderen Gruppen bestätigt wurden (Störkel 1999). Es wurde zusätzlich ein Verlust des Y-Chromosoms beobachtet (Buentig und Störkel 2002).

2.4.5 Nierenonkozytome

Das Nierenonkozytom ist ein gutartiger Tumor, der von dem Sammelröhrenepithel der Niere ausgeht (Nogueira und Bannasch 1988).

Zytogenetisch wurden drei Gruppen der Nierenonkozytome identifiziert.

Die erste Gruppe der Nierenonkozytome zeigt eine Monosomie des Chromosoms 1 und/ oder Chromosoms 14q sowie den Verlust des Y Chromosoms. Eine zweite Gruppe zeigt eine balancierte Translokation zwischen Chromosom 11q13 und anderen Chromosomen. Eine dritte Gruppe weist keine sichtbaren genetischen Alterationen auf oder zeigt unspezifische Veränderungen (Brown et al. 1996, van den Berg et al. 1993, Presti et al. 1996, Junker et al. 2001).

Entscheidend für die Differentialdiagnose ist, dass keine der analysierten Nierenonkozytome die Kombination von spezifischen genetischen Alterationen zeigten, die für klarzellige, papilläre oder chromophobe Nierenzellkarzinome charakteristisch sind (Phillips et al. 2001b). Bisher wurden weltweit erst 5 Familien mit vererbten Onkozytomen bei einem durchschnittlichen Erkrankungsalter von 55,8 Jahren beschrieben (Weirich et al. 1998). Offensichtlich handelt es sich hier um eine heterogene Gruppe von Erkrankungen. Bei einem Teil der Familien wurden die Onkozytome mit multifokaler oder bilateraler Manifestation isoliert beobachtet, bei einem anderen Teil fand man neben den Tumoren Hautveränderungen in Form von Genodermatosen sowie eine Häufung von Pneumothoraces. Diese Patienten können offensichtlich dem Burt-Hogg-Dube-Syndrom zugeordnet werden (Schmidt et al. 2001).

Durch Kopplungsanalysen wurde die kritische Region für das BHD-Syndrom im Chromosomenabschnitt 17p11.2 lokalisiert (Schmidt et al. 2001) und ein Kandidatengen ermittelt, in dem Mutationen bei Betroffenen in 8 von 9 Familien mit BHD-Syndrom nachgewiesen wurden (Nickerson et al. 2002). Dieses Gen kodiert das Protein Folliculin, dessen Rolle bei der Entstehung von Nierentumoren nun geklärt werden muss.

Die genetischen Tumormerkmale der häufigsten Tumortypen sind in der Tabelle 4 zusammengefasst.

Tab. 4: Genetische Merkmale der verschiedenen Tumortypen

Tumortyp	Genetische Veränderungen
klarzellige Nierenzellkarzinome	-3p,-6q,-8p,-9p,+5q und +14q; Mutation des VHL-Gens
papilläre, (chromophile) Nierenzellkarzinome	+3q, +7, +8p, +12q, +16q, +17q und +20; Verlust des Chromosom Y
chromophobe Nierenzellkarzinome	-1, -2, -6, -10, -13, -17 und -21
Sammelrohrkarzinome (Ductus-Bellini-Karzinome)	-1, -6, -15, -18 und -21; Deletion des Y-Chromosoms
Nierenonkozytome	-1 und -14 Chr., sowie Y-Chr. Verlust; Translokationen zwischen 11q13 und anderen Chr.

2.5 M-FISH (Multicolor Fluoreszenz in-situ-Hybridisierung)

Eine zentrale Methode der molekularen Zytogenetik ist die in-situ-Hybridisierung. Die in-situ-Hybridisierung ist eine zytogenetische Technik, mit der spezifische Nukleinsäuren (DNA oder RNA) direkt in fixierten Präparaten von Geweben, einzelnen Zellen oder subzellulären Komponenten lokalisiert werden. Zu solchen Präparaten zählen Gewebeschnitte, isolierte Zellkerne, gespreitete Chromosomen aus Metaphasezellkernen, suspendierte Chromosomen usw. Die Methode geht auf Pionierarbeiten von Gall und Pardue aus dem Jahr 1969 zurück und beruht auf dem Prinzip der molekularen Hybridisierung einzelsträngiger Nukleinsäuren. In den letzten Jahren haben in der Genomanalyse nicht-radioaktive Methoden den ursprünglichen radioaktiven Ansatz weitgehend ersetzt. Bei der nicht-radioaktiven in-situ-Hybridisierung erfolgt die Markierung der Sonde über so genannte Reportergruppen, die entweder selbst fluoreszieren (direkte Markierung) oder die Grundlage für indirekte Nachweisverfahren sind (indirekte Markierung). Nicht-radioaktive Nachweisverfahren benutzen insbesondere colorimetrisch auswertbare Fluoreszenzfarbstoffe. Fluorochrome erlauben eine bessere Auflösung und bieten bessere Möglichkeiten der differentiellen Darstellung vieler Zielsequenzen in einem Vielfarben-in-situ-Hybridisierungsexperiment (M-FISH).

Tab. 5: Die wichtigsten Ansätze der Genomanalyse mittels FISH

Ziel-DNA	Singuläre Sequenzen	Chromosomen	Genom
Metaphase-chromosomen	Kartierung von Genen, Markern usw. Analyse von Chromosomenaberration, klinische Diagnostik	Analyse von Chromosomenaberration klinische Diagnostik	Untersuchung der Homologie zwischen Sondengenom und Targetgenom
Zellkerne	Analyse von Chromosomenaberrationen klinische Diagnostik (Interphasezytogenetik)	Analyse von Chromosomenaberration klinische Diagnostik (Interphasezytogenetik)	
DNA-Fiber	Analyse der genomischen Kontinuität		

Die FISH erlaubt die Lokalisation von DNA-Sequenzen in relativ kurzer Zeit und mit hoher Genauigkeit und Spezifität. Je nach wissenschaftlicher Fragestellung werden geeignete FISH-Sonden und das zu hybridisierende biologische Material kombiniert. Die Tabelle 5 gibt eine Übersicht über die am weitesten verbreiteten Anwendungen.

Zum Erreichen einer höheren Sensitivität wird eine indirekte Markierung bevorzugt. Hierfür wird die Bindung von Antikörpern oder anderen Molekülen mit hoher Affinität zur Reportergruppe ausgenutzt. Da jedes Nachweisreagenz mehrere Reportergruppen trägt, resultiert diese Prozedur in einer räumlichen Akkumulation von Reportern bzw. Fluorochromen. Das am häufigsten verwendete Nachweissystem die für FISH beruht auf dem Bindungskomplex von Biotin und Avidin. Ein weiteres in der FISH erfolgreich eingesetztes Reportermolekül ist Digoxigenin. Andere Reportermoleküle wie Acetylaminofluoren-, Quecksilber- oder Dinitrophenylgruppen spielen heute eine eher untergeordnete Rolle (Lottspeich und Zorbas 1998).

In einem Mehrfarben-FISH-Experiment werden differentiell markierte Sonden über spektral unterschiedliche Fluorochrome nachgewiesen. Für die Kopplung an Nucleotide, die in die DNA eingebaut werden, können eine Vielzahl verschiedener Fluorochrome eingesetzt werden. Dazu zählen FITC (Fluoresceinisothiocyanat, grün), TRITC (Tetramethylrhodaminisothiocyanat, rot), Texas Red (rot), AMCA (Aminomethylcoumarinessigsäure, blau) und die Cyanine TM, eine in den letzten Jahren entwickelte neue Generation von relativ stabilen Fluorochromen.

Im Jahre 1996 wurden Vielfarben-FISH Studien veröffentlicht, in denen unter Verwendung der kombinatorischen Markierungsstrategie alle Chromosomen eines menschlichen Genoms differentiell dargestellt wurden (Lottspeich und Zorbas 1998). Hierzu wurden alle 24 verschiedenen humanen Chromosomen-Painting-Sonden als Sonden mit fünf Fluorochromen in einem kombinatorischen Markierungsansatz eingesetzt. Die Auswertung jeder Metaphase erfolgt durch fünf verschiedene Aufnahmen (für jeden Fluoreszenzfarbstoff differentiell) und die Konstruktion eines Images mit 24 pseudoeingefärbten Chromosomen.

Die Markierung kann durch Nick-Translation, durch Random-Priming oder durch PCR-Techniken erfolgen.

Um die DNA in den Einzelsträngen zu denaturieren, werden die Zielsequenzen (Chromosomen, Zellkerne) auf den Objektträgern erhitzt. Da eine Inkubation bei 95-100 °C die Morphologie der Präparate sehr stark beeinträchtigen kann, wird generell eine Inkubation mit Formamid bevorzugt, da die Schmelztemperatur durch Formamid erniedrigt wird. Der Hybridisierungscocktail, der die denaturierte DNA-Sonde zusammen mit der

vorhybridisierten Kompetitor-DNA enthält, wird auf dem Objektträger unter einem Deckglas bei 37°C inkubiert.

Schematisch wird dass in folgender Abbildung 1 dargestellt (Andreeff und Pinkel 1999).

Die Hybridisierung repetitiver DNA-Sonden ist zum größten Teil nach wenigen Minuten bis Stunden abgeschlossen, während für singuläre Sequenzen eine Inkubation über Nacht notwendig ist. Nach der Hybridisierung werden die Objektträger gewaschen, um ungebundene Sonden-DNA zu entfernen.

Die Auswertung wird mit einem Fluoreszenzmikroskop durchgeführt. Als Lichtquelle dienen spezielle Lampen, z.B. Quecksilberlampen oder Laser. Je nach Anwendung werden die Anregungs- und/oder Emissionswellenlängenbereiche über selektive Multi-Bandpass-Filtersysteme eingestellt.

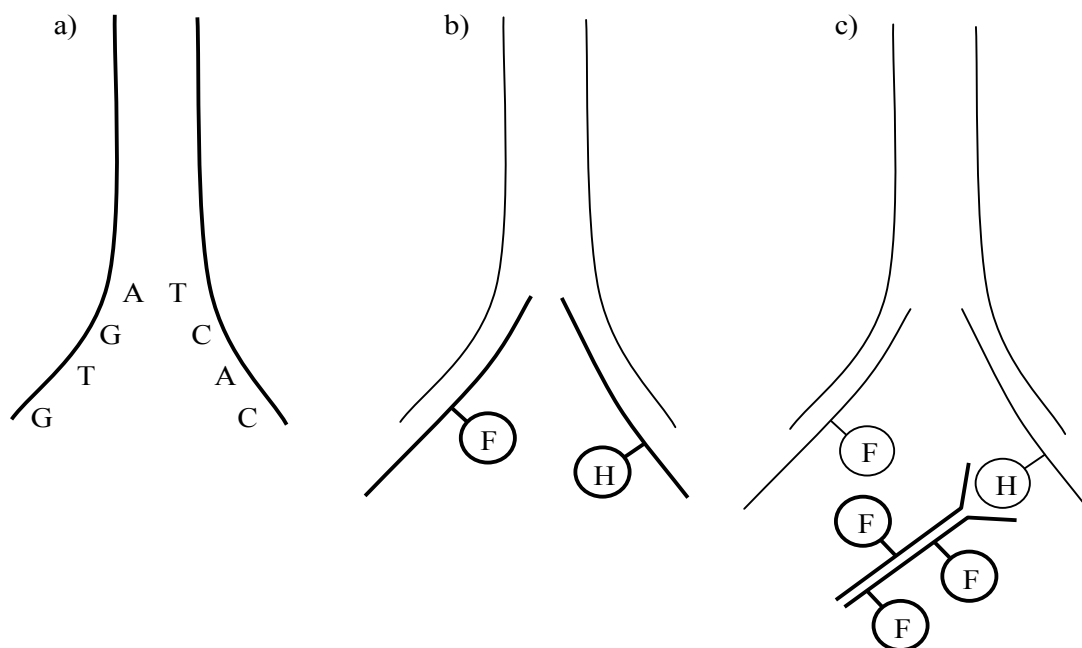


Abb. 1: Schema FISH

- DNA-Doppel-Helix (fette Linien) wird denaturiert, um sie in ihre Einzelstränge zu überführen
- Das Target wird mit denaturierten Fluorochromen (F) oder Hapten (Biotin oder Digoxigenien) markierten Sonden (fette Linien) hybridisiert
- Nach dem Waschen der Fluorochrom markierten DNA-Sequenzen können diese visualisiert werden. Die Hapten markierten Sonden benötigen dafür neigende Reagenzien wie Avidin oder Antikörper (fette Linien), die Fluorochrome enthalten

Die Analyse der Hybridisierungssignale wird durch den zunehmenden Einsatz von sensitiven Kameras, beispielsweise CCD-Kameras, erheblich erleichtert.

Eine Vielzahl an spezialisierten integrierten Bildanalysesystemen erleichtert nicht nur die Bedienung des Mikroskopes und die Speicherung der erhobenen Daten, sondern ermöglicht insbesondere auch hochwertige qualitative und quantitative Analysen der FISH-Experimente (Lottspeich und Zorbas 1998).

2.6 Klinische Bedeutung der genetischen Nierentumordifferenzierung

Eine genaue Subtypisierung der Nierenzellkarzinome ist für die Aufstellung von Prognoseparametern und zur Therapiewahl von großer Bedeutung (Amin et al. 1997, Cheville et al. 2003). Der natürliche Krankheitsverlauf des Nierenzellkarzinoms ist in Abhängigkeit vom Subtyp unterschiedlich. Vom Nierenzellkarzinomsubtyp hängt die Therapieoption (radikale bzw. partielle Tumornephrektomie, systemische Therapie) ab. Die genaue Typisierung ist ebenfalls für Patienten, bei denen bereits ein metastasiertes Tumorgeschehen vorliegt, klinisch relevant. Heutzutage ist es möglich bei diesen Patienten die sog. „Targettherapie“ einzuleiten. Die Fortschritte in der molekularen Dissektion der Nierenzellkarzinome lassen hoffen, tumorspezifische Strukturen zu identifizieren, die dann einer zielgerichteten Therapie zugrunde gelegt werden können. Eine dieser Zielstrukturen ist der „Vascular Endothelial Growth Faktor“ und die Strukturen in der nachfolgenden Signalkaskade (Kuefer et al. 2006).

Aufgrund der ausgeprägten morphologischen Heterogenität der Nierenzelltumore ist eine eindeutige Identifikation der Tumorentitäten nach zytologischen und histologischen Kriterien oft sehr schwierig. Deshalb ist eine genetische Analyse hilfreich. Durch umfangreiche Untersuchungen der NZK wurde gezeigt, dass die verschiedenen Subtypen des Nierenzellkarzinoms bestimmte voneinander differente genetische Muster aufweisen. Einen zuverlässigen Nachweis der genetischen Alterationen der Tumore erlaubt die comparative genomische Hybridisierung. Das Verfahren wird nach einem relativ einfachen Hybridisierungsprotokoll durchgeführt und erlaubt die Untersuchung des Genomsmaterials ohne die Notwendigkeit einer Chromosomenanalyse (Karhu et al. 1999). Der Nachteil dieser Methode liegt darin, dass ihre Durchführung sehr zeit- und arbeitsintensiv ist. Im Vergleich dazu ist die Interphase-FISH eine sehr effektive Methode zum Nachweis der genetischen Alterationen des Tumorgewebes. Der Hauptvorteil dieser Methode besteht darin, dass man keine aufwendige Chromosomenpräparation benötigt und für ein breites Spektrum von Zellmaterialien, die sowohl frisch präpariert als auch konserviert vorliegen können, direkt anwendbar ist. Bei der Durchführung der Interphase-FISH findet keine klonale Selektion statt und das genetische Material bleibt intakt (Sanjmyatav et al. 2005).

3 Zielsellung der Arbeit

Trotz fortgeschrittener Diagnostikmethoden ist die Einschätzung der Dignität von Raumforderungen in der Niere nicht immer sicher abzuklären.

Die präoperative Diagnosesicherung gewinnt jedoch zunehmend an Bedeutung, da immer kleinere Tumore vor allem auch bei älteren Patienten mit vielen Nebenerkrankungen festgestellt werden. Hier stellt sich die Frage nach der Notwendigkeit einer invasiven und vor allem kostenintensiven Therapie. Daher könnte die präoperative Feinnadelbiopsie zur Differenzialdiagnostik beitragen. Wie bereits ausgeführt, würden insbesondere Onkozytompatienten von der Biopsie profitieren, da ihnen ein operativer Eingriff erspart wird. Dadurch kann die Invasivität der Nierentumorchirurgie gesenkt und eine Ersparnis im Gesundheitswesen erreicht werden. Die Wertigkeit der Nierentumorbiopsie ist im urologischen Fachgebiet umstritten. Ursachen sind: technische Schwierigkeiten bei der Gewinnung von repräsentativen Biopsiezylindern, fehlende sichere histopathologische Bewertung und eventuelle Tumorzellaussat nach Nierentumorbiopsie.

Das Ziel dieser Studie ist deshalb die Bewertung der Feinnadelbiopsie zur Diagnosesicherung. Hierzu erfolgte die histopathologische und genetische Klassifizierung der gewonnenen Biopsien.

In Rahmen der vorliegenden Arbeit sollten zwei Themenkomplexe untersucht werden:

I. Optimierung der Biopsieentnahme zur Gewinnung vom repräsentativen Untersuchungsmaterial und Komplikationenreduzierung:

1. Wo soll die Biopsie entnommen werden: zentral oder peripher?
2. Wie viele Biopsien sind notwendig, um eine sichere Diagnose zu stellen?
3. Ist das eingesetzte Handling (hochauflösende Sonographie, gezielte Tumorpunktion, gewonnene Biopsiezylinder) in der Lage repräsentatives Tumormaterial zu gewinnen?
4. Welche Komplikationen und Folgen (Tumorzellaussat) treten nach Nierentumorbiopsie auf?

II. Bewertung der diagnostischen Sicherheit am Biopsiepräparat:

1. Wie sicher ist die histopathologische Klassifizierung am Biopsiepräparat?
2. Kann die M-FISH zur Sicherung des histologischen Befundes beitragen?

4 Material und Methoden

4.1 Retrospektive Evaluierung der Nekroshhäufigkeit

Um zu klären, wo die Nierentumorbiopsie entnommen werden muss, wurde in Rahmen dieser Arbeit die Häufigkeit von Nekrosen und/oder Fibrosen im Nierentumorgewebe in Abhängigkeit von der Tumorgroöe und Lokalisation retrospektiv untersucht. Es wurden histopathologische Befunde von in der Klinik für Urologie der FSU Jena durchgeführten Tumor-Nephrektomien im Zeitraum von März 1998 bis Dezember 2003 analysiert. Insgesamt wurden 293 histopathologische Befunde bewertet.

4.2 Patientengut

Zur Bewertung der diagnostischen Sicherheit sowie histopathologischen als auch genetischen Klassifizierung wurden die Biopsien zuerst postoperativ entnommen. Dabei sollte geklärt werden, ob die zur Verfügung stehenden Methoden (histopathologische und M-FISH Untersuchung) eine genügende Suffizienz, Sensitivität bzw. Spezifität für eine präoperative Studie aufweisen. Im zweiten Schritt wurde bei Patienten bei entsprechender klinischer Indikation die Biopsieentnahme durchgeführt. Hierbei sollte neben den oben aufgeführten Problemstellungen die Frage der optimalen technischen Durchführung beantwortet und das Risiko und eventuelle Folgen (Tumorzellaussat) von Nierentumorbiopsien bewertet werden. Aufgrund dessen ergeben sich zwei Patientengruppen. Die Patienten wurden entsprechend aufgeklärt und waren mit diesem Vorgehen einverstanden. Die Untersuchung an Patienten wurde durch die Ethikkommission der Friedrich Schiller Universität Jena bewilligt (Bearbeitungsnummer: 1371-08/04 von 23.08.2004).

Bei der ersten Gruppe (siehe Abbildung 2) erfolgte die Biopsie postoperativ am Tumornephrektomie-Präparat (n=20). In der zweiten Gruppe (siehe Abbildung 4) wurde die Biopsie präoperativ zur Abklärung klinisch unklarer renaler Raumforderungen in einer konsekutiven Serie durchgeführt (n=25).

In der postoperativen Gruppe erfolgte eine Unterteilung in zwei Subgruppen in Abhängigkeit von der Tumorgroöe (zehn Patienten mit Nierentumorgroöe kleiner als vier cm und zehn Patienten mit Nierentumorgroöe größer als vier cm). Hier wurden unmittelbar nach Tumornephrektomie an zwei Stellen (links und rechts) des Tumors vier periphere Biopsien entnommen. Es erfolgte die Entnahme von vier peripheren Biopsien um sowohl die Punktion von zentralen Nekrosen zu vermeiden als auch die optimale diagnostische Zahl der Biopsien

festzustellen (siehe auch Seite 39, 63-64). Von vier Biopstaten wurden zwei zur histologischen Untersuchung eingesandt, zwei weitere sofort eingefroren und nachfolgend mit Hilfe der M-FISH Methode untersucht (siehe Abbildung 2).

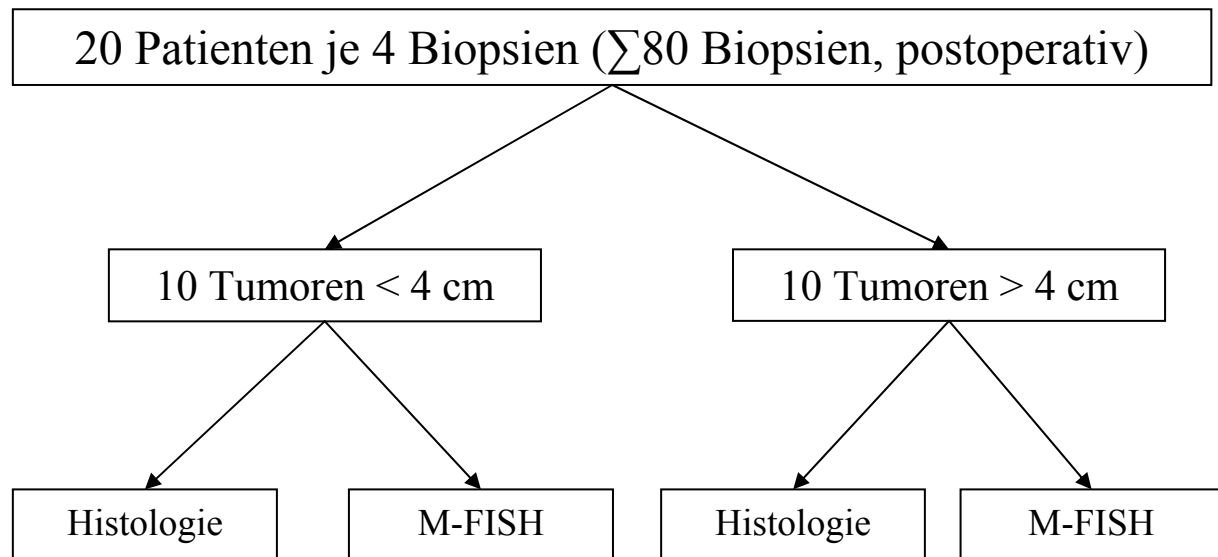


Abb. 2: Untersuchungsschema-Untersuchungsgruppe, postoperativ

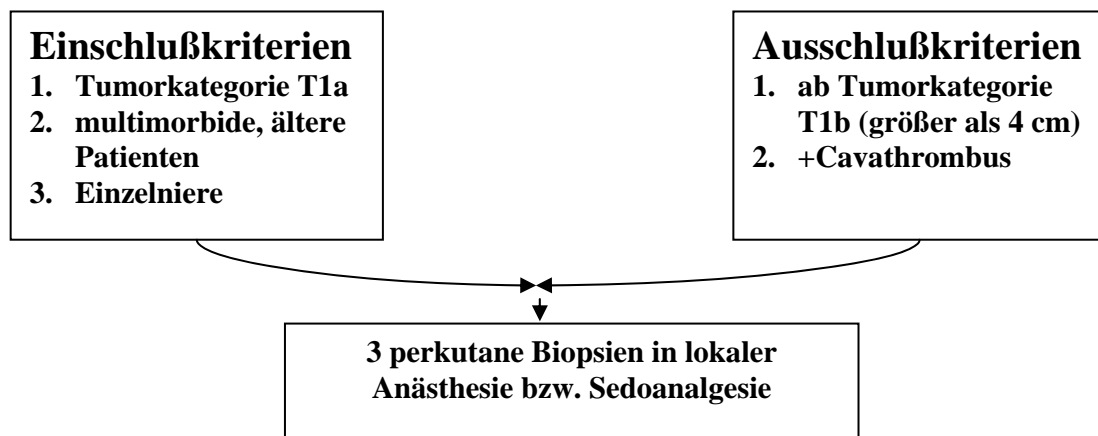


Abb. 3: Schema der Indikationen bei präoperativer Biopsie

Die Einschlusskriterien zur präoperativen Biopsie für die zweite Gruppe waren:

1. Patienten mit kleinen (bis vier cm) und/oder homogen strukturierten Nierentumoren (insbesondere Tumorkategorie T1a), da bei homogen strukturierten Nierentumoren die Wahrscheinlichkeit eines Onkozytoms steigt.
2. ältere Patienten, insbesondere mit multiplen Begleiterkrankungen, bei denen präoperativ geklärt werden soll, inwieweit eine Operation notwendig ist.
3. Patienten mit Zustand nach partieller Nephrektomie bzw. Tumornephrektomie und bestehendem Verdacht auf Lokalrezidiv (insbesondere bei Einzelniere).

Ausschlusskriterien zur präoperativen Biopsie waren:

1. Patienten mit Nierentumorgroße über vier cm
2. Vorhandensein eines Cavathrombus (siehe Abbildung 3)

In der präoperativen Gruppe sind drei Proben entnommen worden: zwei sind zur histologischen Untersuchung eingesandt worden. Eine Probe wurde zur molekulargenetischen Untersuchung und mit Hilfe der M-FISH Methode eingesetzt (siehe Abbildung 4).

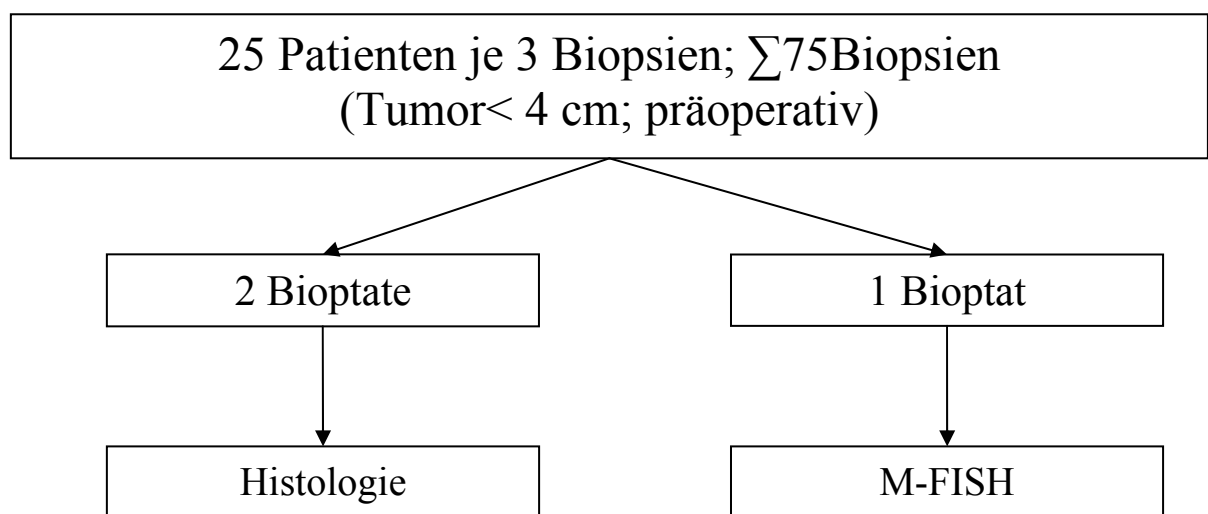


Abb. 4: Untersuchungsschema-Untersuchungsgruppe, präoperativ

4.3 Biopsieentnahme

Die präoperative Biopsie erfolgte nach standardisiertem Vorgehen:

- Sorgfältige Desinfektion der Lumbalregion in gering aufgeknickter Bauchlage.
- Einstellen der Tumorregion und Applikation von oberflächlichen und tiefen Lokalanästhesie in Lumbalregion mit insgesamt 7-10 ml Xylonest® 1% und Bupivacain 0,5% gemischt im Verhältnis 2:1 unter sonographischer Führung und Nutzung der Biopsiehilfe.

- Hautinzision im kutanen Injektionsareal, Aufsetzen der Hülse, die ca. zwei bis drei cm tief in das Subkutangewebe vorgeschoben wird, um eine bessere Führung zu erreichen.
- Entnahme von insgesamt drei Stanzbiopsien aus der Peripherie des Tumors.
- Steriler Verband (siehe Abbildung 5a, 5b).

Postoperativ sollte innerhalb von zwei Stunden eine Ultraschall- und Blutdruck/Pulskontrolle erfolgen.



Abb. 5a: Nierentumorbiopsie: Ultraschallkopf mit aufgesetzter Biopsienadel; Lagerung des Patienten



Abb. 5b: Nierentumorbiopsie: sonographisches Bild, intraoperativ

Zur sonographischen Biopsieunterstützung wurde ein Ultraschallgerät „Falcon Typ 2101 EXL“ (3,5 MHz Schallkopf) verwendet. Alle Biopsien wurden von einem Urologen mit dem Biopsy-gun System (18-Gauge, side-cutting Nadel) durchgeführt. Insgesamt wurden 155 Biopsien entnommen.

4.4 Histopathologische Bewertung

Die histopathologische Bewertung der Nierentumoren erfolgte im Institut für Pathologie der Friedrich Schiller Universität Jena nach der pTNM-Klassifikation der UICC (2002, 6. Auflage). Diese basierte auf den Ergebnissen klassischer pathologischer Untersuchungstechniken wie Hämatoxylin-Eosin(HE)-Färbung, histo- und immunhistochemische sowie Hale-Färbung.

Die Biopsiepräparate wurden unabhängig von den Nierentumorpräparaten untersucht. Alle Präparate wurden vom gleichen Pathologen histologisch bewertet. Die Ergebnisse der Biopsie sind mit dem endgültigen Histologiebefund des gleichen Tumorpräparates verglichen worden mit einer Ausnahme: im Fall einer benignen Läsion in der präoperativen Gruppe erfolgte keine Operation.

4.5 M-FISH Protokoll

4.5.1 Zellkernpräparation

4.5.1.1 Lösungen:

- PT-100 Puffer (0.1 M Citrat Puffer:[19,2 Gramm Zitronensäure ad 1000 ml Aqua destillata]+0,05% Tween®)
- Fixativ (Methanol:Eisessig 3:1)
- Alkoholreihe: 70%, 85% und 100% Ethanol

4.5.1.2 Durchführung

Zehn Gelfrierschnitte (50 µm) pro Biopsie wurden auf sterilen Petrischalen nach Auftauen mit einer Lanzette mechanisch zerkleinert und in ca. 300 µl PT-100 Puffer suspendiert. Die Zellsuspension wurde dann mit Pipette in eine Tube überführt und 90 min bei Raumtemperatur inkubiert. Danach wurden die separierten Zellen mit 500 µl frisch hergestelltem Fixativ (Methanol:Eisessig 3:1) zweimal gewaschen und die Zentrifugation erfolgte zwei min bei 6000 U/min. Das Zellsediment wurde dann in 200-500µl Fixativ aufgenommen. Die Zellsuspension wurde auf Objektträger getropft und getrocknet. Der Rest der Kernsuspension wurde bei -20°C aufzubewahrt. Die Dehydrierung der Objektträger

erfolgte in aufsteigender Alkoholreihe 70%, 85% und 100% jeweils zwei min. Die Objektträger wurden in 100%-igem Ethanol bei –20°C aufbewahrt.

4.5.2 Herstellung der Hybridisierungssonden

Basierend auf bekannten Veränderungen der Nierentumore wurden für das Testsystem zwei verschiedene multicolor-FISH Testsets zusammengestellt. Jedes Testset bestand aus vier Proben, die jeweils mit unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen (DEAC, Spektrum Orange, Spektrum Green, Texas Red) markiert waren. Der Test 1 enthält die Zentromerproben der Chromosomen 1, 2, 6 und 9. Für den Test 2 wurden die Zentromerproben der Chromosomen 7, 17 und zwei regionspezifische Proben des Chromosoms 3 (3p25-pter, 3p14) ausgewählt. Zur Herstellung der Sonden finden sich detaillierte Angaben bei Sanjmyatav et al. 2005.

4.5.3 Vorbehandlung der Objektträger

4.5.3.1 Lösungen:

- -1x PBS-Puffer
- -1%-ige Formaldehyd:
- 2,5 ml 2M MgCl₂
- 2,85 ml 35%-ige Formaldehyd
- 94,6 ml 1x PBS
- Pepsinstocklösung: 5 g Pepsin wird in 50 ml sterilen Aquadest gelöst, aliquotiert bei –20°C aufbewahrt.
- -Alkoholreihe: 50%, 70% und 100%

4.5.3.2 Ablauf

500µl Pepsinstocklösung wurden in 100 ml auf 37°C vorgewärmten 0,01N HCl Lösung aufgelöst. Der Objektträger wurde zehn min in dieser Lösung inkubiert und anschließend in 1xPBS drei min bei Raumtemperatur gewaschen. Danach wurde der Objektträger in 1%-igen Formaldehyd zehn min bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend wurde der Objektträger wieder in 1xPBS drei min bei Raumtemperatur gewaschen, durch die Alkoholreihe dehydriert und bei -20°C aufbewahrt.

4.5.4 Hybridisierung

4.5.4.1 Denaturierung der Probe

Die fluoreszenzmarkierten Sonden (Test 1 und Test 2) wurden fünf min im Wasserbad bei 80°C denaturiert, fünf min auf Eis gelagert und anschließend mindestens 30 min bei 37°C inkubiert.

4.5.4.2 Denaturierung der Objektträger

Die Objektträger wurden zwei min in 70%-igen Formamid bei 80°C denaturiert, je zwei min durch die Alkoholreihe (50%, 70% und 100%) dehydriert und getrocknet. Je 4µl von jeder denaturierten Probe wird auf Objektträger gegeben und mit Deckgläsern (11mmØ) zugedeckt. Anschließend wurden die Deckgläser mit Fixogum verschlossen und mindestens 24h bei 37°C hybridisiert.

4.5.5 Abwaschen

Vor dem Abwaschen wurden die hybridisierten Stellen mit Diamantstift von der unteren Seite der Objektträger markiert. Der Objektträger wurde in folgenden Lösungen gewaschen:

- 1x10 min bei 45°C in 50%igen Formamid
- 1x10 min bei 45°C in 2xSSC: [50 ml 20xSSC auf 500 ml mit Aqua bidestillata auffüllen]
- 1x3 min bei Raumtemperatur in 4xSSC-Tween :[100 ml 20xSSC+1 ml Tween® auf 500 ml Aqua bidestillata auffüllen]
- 1x3 min in PBS bei Raumtemperatur

Nach Zugabe von 20-25µl DAPI-lösung wurde der Objektträger mit 24x60 Deckglas zugedeckt.

4.5.6 Auswertung, Dokumentation

Die Auswertung erfolgte mit einem speziellen Fluoreszenzmikroskop (Axioplan2, Carl-Zeiss) und einem computergestützten, digitalen Bildanalyse-Programm ISIS® (In Situ Imaging System) der Firma Metasystems. Die Fluoreszenzbilder sind mit einer CCD Kamera sowie einem FITC, TRITC und DAPI spezifischen Filtersystem aufgenommen worden. Für jeden postoperativen Fall sind zwei Proben (rechts und links) bearbeitet worden, im präoperativen Fall eine Probe. Pro Fall und Test wurden die Fluoreszenzsignale jeweils an 50 Zellkernen ohne Kenntnis des pathologischen Befundes ausgewertet.

Tab.6: Cut-Off-Wert der Fluoreszenzsignale im gesunden Nierengewebe

Probe Chr. Nr.	Cut-Off-Wert der Normalsignale von 25 gesunden in %	Doppelte Standardabweichung	Cut-Off
1	94	9	85
2	97	6	91
6	92	14	78
7	97	5	91
9	97	11	86
17	87	18	69
3/1	98	5	93
3/2	98	5	93

Für die Auswertung der Interphase-FISH wurde der von Sanjmyatav et al. entwickelte Normwert („Cutoff“) verwendet. Sanjmyatav et al. haben Normwerte für gesundes Nierengewebe definiert, um zwischen normal und „verändert“ zu unterscheiden. Dafür wurden 25 Proben von gesundem Nierengewebe mit dem Testsystem (1 und 2) analysiert. Für jede einzelne Sonde und den entsprechenden Fluoreszenzfarbstoff wurde dann ein statistisch sicherer Bereich errechnet, welcher durch folgende Formel definiert war: Cut-Off der Fluoreszenzsignale von 25 gesunden Gewebeproben \pm doppelte Standardabweichung (Sanjmyatav et al. 2005) (siehe Tabelle 6).

5 Ergebnisse

5.1 Wo soll die Biopsie entnommen werden?

Im Zeitraum von März 1998 bis Dezember 2003 wurden in der Klinik für Urologie der FSU Jena 293 Tumor-Nephrektomien durchgeführt. Von insgesamt 293 Nierentumoren hatten 115 eine Tumorgroße unter vier cm und 178 eine Tumorgroße von mehr als vier cm. Es wurde die Häufigkeit von Nekrosen und/oder Fibrosen im Tumorgewebe in Abhängigkeit von der Tumorgroße und Region analysiert. Alle Präparate sind in Abhängigkeit von der Tumorgroße in sieben Gruppen unterteilt worden (siehe Tabelle 7).

Tab. 7: Häufigkeit von Nekrosen in Abhängigkeit von der Tumorgroße

Gruppe Nr.	Tumorgroße (cm)	n	Häufigkeit (%) von	
			Zentralnekrotisierung	Periphernekrotisierung
1	bis 2 cm	6	30%	0%
2	von 2-3 cm	35	40%	14%
3	von 3-4 cm	68	63%	19%
4	von 4-6 cm	16	81%	18%
5	von 6-8 cm	77	82%	34%
6	von 8-10 cm	28	99%	36%
7	mehr als 10 cm	63	90%	59%

Es zeigte sich generell eine Zunahme der Zentralnekrotisierung von 30% (bei der Tumorgroße bis zwei cm) bis 90% (bei Tumoren größer als zehn cm). Zusätzlich beobachtete man eine Zunahme der Nekrosen in der peripheren Tumorzone mit der Tumorgroße.

Aufgrund des festgelegten Untersuchungsschemas sind alle Tumore in Abhängigkeit von der Größe in zwei Gruppen unterteilt worden:

1. Die Tumoren kleiner als vier cm
2. Die Tumore größer als vier cm

Wir beobachteten Zentralnekrosen in Präparaten bei einer Tumorgroße unter vier cm in 56%, bei Tumoren größer als vier cm in 87% (siehe Abbildung 6).

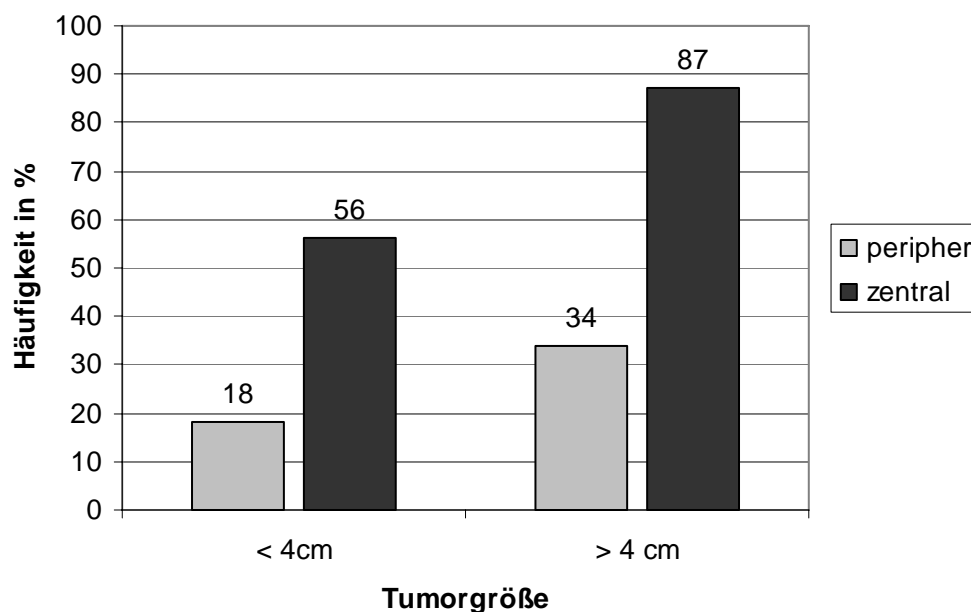


Abb. 6: Häufigkeit von Nekrosen in Nierentumoren kleiner oder größer als 4 cm

5.2 Histopathologische Ergebnisse der Nierentumoren in der postoperativen Gruppe.

Die histopathologische Evaluierung der Tumorpräparate erfolgte von Februar 2004 bis November 2005. Die Tumore der postoperativen Gruppe waren zwischen 1,1 und 10 cm groß (MW 4,95). Unter den untersuchten Patienten waren 14 Männer und sechs Frauen. Das entspricht einem Verhältnis von männlichen zu weiblichen Patienten wie 1:2,3. Das Alter der Patienten lag zum Zeitpunkt der Operation am Nierenkarzinom zwischen 48 und 74 Jahren, durchschnittlich also bei 63,1 Jahre.

Die postoperative Gruppe wurde in zwei Subgruppen in Abhängigkeit von der Tumorgroße unterteilt (zehn Patienten mit Nierentumorgroße kleiner als vier cm und zehn Patienten mit einer Nierentumorgroße größer als vier cm). Bei insgesamt 20 Tumornephrektomiepräparaten beobachteten wir zehn klarzellige NZK (50%), drei in der pT1a-Gruppe und sieben in der pT1b-Gruppe. Ein papilläres Nierenzellkarzinom war in sechs Fällen (30%) nachweisbar (drei Fälle pT1a und drei Fälle pT1b). Onkozytome fanden sich nur in der Gruppe kleiner als vier cm mit einer Häufigkeit von 15% (3x). In einem Fall (5%) hat sich der Verdacht auf einen Nierentumor nicht bestätigt.

In der Tabelle 8 und in der Abbildung 7 sind die histopathologischen Ergebnisse der untersuchten Nierentumore dargestellt.

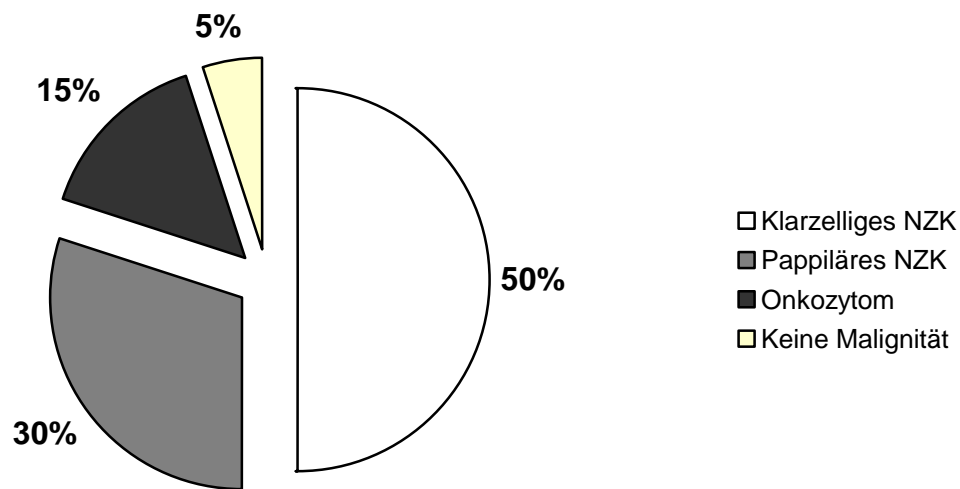


Abb. 7: Graphische Darstellung der Häufigkeit (%) der Tumorarten in der postoperativen Gruppe

Tab. 8: Histopathologische Ergebnisse der untersuchten Nierentumoren in der postoperativen Gruppe

Histopathologische Klassifizierung	Anzahl	
	pT1a	pT1b
- klarzelliges NZK	3	7
- papilläres NZK	3	3
- Onkozytome	3	
- keine Malignität	1	

5.3 Histopathologische Ergebnisse der postoperativen Nierentumorbiopsien

Die Tumorgöße hat die Materialgewinnung und die histologische Bewertung nicht beeinflusst. Alle 40 Biopate waren für die histopathologische Untersuchung suffizient.

In der pT1a Gruppe stimmte die histopathologische Klassifizierung des Biopsiezylinders in acht von zehn Fällen mit der Klassifikation am Gesamtpräparat überein.

Im Fall Nr. 2604 (5%) aus der pT1a-Gruppe fand sich in der Biopsie nur fibrotisches Material, während im Präparat ein klarzelliges Nierenzellkarzinom nachweisbar war.

In einem anderen Fall Nr. 0705 (5%) fand sich in der Biopsie kein Tumormaterial, beim endgültigen Befund im Tumornephrektomiepräparat zeigte sich ein papilläres Nierenzellkarzinom. Das heißt, dass die falsch negative Rate in der pT1a-Gruppe 20% (vier Biopsien) betrug. Pro Fall gerechnet lag die falsch negative Rate in der pT1a-Gruppe ebenfalls bei 20%.

Im Fall Nr. 3204 wurde sowohl in der Biopsie als auch im Präparat kein Tumor nachgewiesen. Die Sensitivität in o.g. Gruppe lag bei 80%, die Spezifität dabei bei 100%. Zu beachten ist, dass die histopathologische Untersuchung des Biopsiematerials im Fall Nr. 3204 lediglich anhand einer Biopsie erfolgte, da das Präparat während des Transports zerstört wurde. In der Tabelle 9 sind die histopathologischen Ergebnisse der untersuchten Nierentumore im Biopsiematerial und im Tumornephrektomiepräparat in der pT1a-Gruppe dargestellt.

Tab. 9: Ergebnisse der postoperativen Gruppe mit einer Tumorgöße kleiner als 4 cm

Fall-Nr.	Tumorgöße (cm)	Tumorseite	Histologie-Biopsie	Histologie-Präparat
0705	3,5 x 3,1	rechts	kein Tumor	papilläres NZK
		links	kein Tumor	
3204	2,5 x 2,0	rechts	Fibrose	keine Malignität
		links	Gefäßzerstörung	
7604	3,2 x 2,1	rechts	papilläres NZK	papilläres NZK
		links	papilläres NZK	
2604	1,6 x 1,1	rechts	Fibrose	klarzelliges NZK
		links	Fibrose	
6604	1,7 x 1,7	rechts	Onkozytom	Onkozytom
		links	Onkozytom	
3904	2,5 x 1,5	rechts	klarzelliges NZK	klarzelliges NZK
		links	klarzelliges NZK	
3605	1,9 x 0,6	rechts	Onkozytom	Onkozytom
		links	Onkozytom	
0204	3,8 x 3,4	rechts	papilläres NZK	papilläres NZK
		links	papilläres NZK	
9505	2,8 x 2,6	rechts	Onkozytom	Onkozytom
		links	Onkozytom	
2504	3,2 x 3,0	rechts	klarzelliges NZK	klarzelliges NZK
		links	klarzelliges NZK	

In der pT1b Gruppe stimmte die histopathologische Klassifizierung in allen zehn Fällen mit der Klassifikation am Gesamtpräparat überein. Pro Biopsie gerechnet beobachteten wir in 17 von 20 Biopstaten eine Übereinstimmung. In drei von 20 peripheren Biopsien in der pT1b-Gruppe wurde lediglich eine Fibrose (ohne Tumornachweis) gefunden.

Tab. 10: Ergebnisse der postoperativen Gruppe mit einer Tumorgöße größer als 4 cm

Fall-Nr.	Tumorgöße (cm)	Tumorseite	Histologie-Biopsie	Histologie-Präparat
5805	4 x 3,5	rechts	papilläres NZK	papilläres NZK
		links	papilläres NZK	
0104	6 x 5	rechts	Fibrose	papilläres NZK
		links	papilläres NZK	
0704	8,5 x 5,5	rechts	klarzelliges NZK	klarzelliges NZK
		links	klarzelliges NZK	
5204	4,5 x 4	rechts	klarzelliges NZK	klarzelliges NZK
		links	klarzelliges NZK	
1704	4,5 x 4,5	rechts	klarzelliges NZK	klarzelliges NZK
		links	klarzelliges NZK	
4005	5,1 x 4,8	rechts	klarzelliges NZK	klarzelliges NZK
		links	klarzelliges NZK	
1004	10 x 9	rechts	klarzelliges NZK	klarzelliges NZK
		links	klarzelliges NZK	
8404	7,1 x 4,3	rechts	papilläres NZK	papilläres NZK
		links	papilläres NZK	
9704	4,4 x 2,5	rechts	klarzelliges NZK	klarzelliges NZK
		links	Fibrose	
4005	5,1 x 4,8	rechts	klarzelliges NZK	klarzelliges NZK
		links	Fibrose	

Die falsch negative Rate betrug 15% (drei Biopsien). Die Sensitivität in o.g. Gruppe lag bei 85% (pro Biopsie gerechnet). Pro Fall gerechnet lag die Sensitivität bei 100%. In der Tabelle

10 sind die histopathologischen Ergebnisse der untersuchten Nierentumore in der pT1b Gruppe im Biopsiematerial und in Tumornephrektomiepräparat dargestellt.

Anhand der angegebenen Daten lag die Genauigkeit der Biopsie bezüglich der Dignität in der postoperativen Tumorgruppe bei einer Tumorgöße von kleiner als vier cm. bei 80%. In 16 von 20 Biopstaten konnte eine korrekte Diagnose gestellt werden.

Die Genauigkeit der postoperativen Biopsie lag bei einer Tumorgöße von mehr als vier cm bei 85%. In 17 von 20 Biopstaten war die histopathologische Klassifikation korrekt.

In zwei von 20 peripheren Biopsien in der pT1a-Gruppe und in drei von 20 peripheren Biopsien in der pT1b-Gruppe wurde lediglich eine Fibrose (ohne Tumornachweis) diagnostiziert. Die Häufigkeit der Fibrose lag somit in der pT1a und pT1b-Gruppe bei 10% bzw. 15%.

In Tabelle 11 sind die histopathologischen Ergebnisse der untersuchten postoperativen Nierentumorbiopsien dargestellt.

Tab. 11: Die histopathologischen Ergebnisse der postoperativ untersuchten Nierentumorbiopstate

Histopathologische Klassifizierung	Anzahl		Tumornummer
	pT1a	pT1b	
- klarzelliges NZK	4	12	3904, 0704, 5204, 1704, 4005, 1004, 2504, 9704, 8705
- papilläres NZK	4	5	7604, 0204, 5805, 0104, 8404
- Onkozytom	6	0	6604, 3605, 9505
- keine Malignität	4	0	3204, 0705
- Fibrose	2	3	2604, 8705, 9704, 0104

Die gesamte Genauigkeit der Definition des Tumortyps lag in der postoperativen Gruppe bei 82,5% (pro Biopsie gerechnet). Pro Fall betrachtet lag die Sensitivität in der postoperativen Gruppe bei 90%. Die Ergebnisse wurden in Tabelle 12 zusammengefasst.

Tab. 12: Anzahl und Genauigkeit der postoperativen Biopsien bei Tumoren bis 4 cm und größer als 4 cm im Durchmesser

Dignität	pT1a-Gruppe		pT1b-Gruppe	
	Anzahl	Genauigkeit	Anzahl	Genauigkeit
Tumornachweis (maligne/benigne)	16/20	80%	17/20	85%
Fibrose	2 (15%)	-	3 (15%)	-

5.4 Histopathologische Ergebnisse der Nierentumorbiopsien in der präoperativen Gruppe

In der zweiten Gruppe wurden die Biopsien zwischen Juli 2004 und Februar 2006 präoperativ zur Abklärung klinisch unklarer renaler Raumforderungen durchgeführt. Dabei sind insgesamt 25 Patienten in die Untersuchung miteinbezogen worden.

Die Tumore der präoperativen Gruppe waren zwischen 1,5 cm und 4 cm groß (MW=2,5 cm). In allen Fällen der 25 präoperativ entnommenen Biopsien war das Material für die histopathologische Untersuchung suffizient.

Bei 25 durchgeführten Nierentumorbiopsien fanden sich histologisch 14 klarzellige NZK (56%), ein papilläres NZK (4%), ein Leiomyom (4%), ein Adenokarzinom (4%), sechs Onkozytome (24%). In zwei Fällen (8%) konnte kein Tumorgewebe nachgewiesen werden. Von 25 Nierenläsionen waren sieben (28%) benigne (Tabelle 13 und Abbildung 8).

Tab. 13: Histopathologische Ergebnisse der untersuchten präoperativen Biopsien

Histopathologische Klassifizierung	n	Tumornummer
- klarzelliges NZK	14	8504, 8604, 6305, 9705, 1704, 7205, 9005, 3505, 7304, 0504, 2305, 3005, 6405, 4306
- Leiomyom	1	6405
- keine Malignität	2	4805, 2404
- papilläres NZK	1	2104
- Onkozytome	6	9505, 9305, 1305, 8904, 2204,
- Adenokarzinom	1	7905

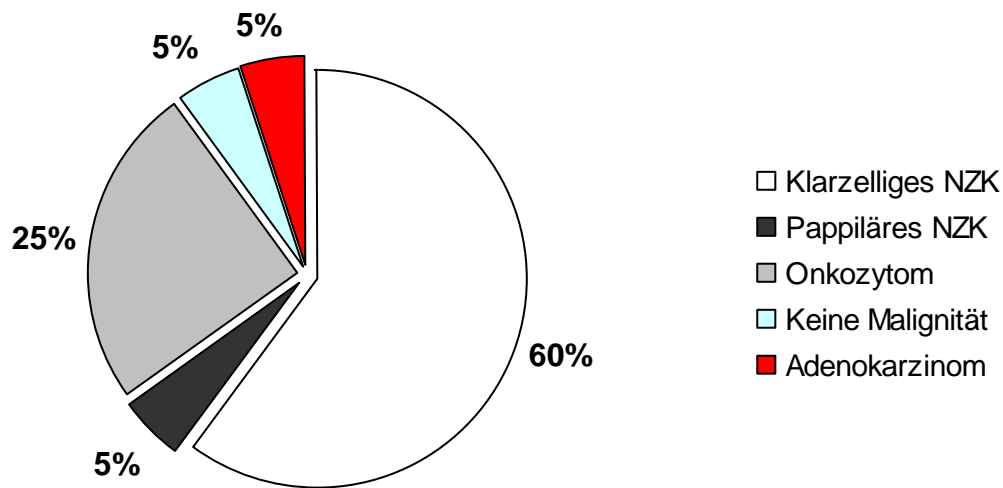


Abb. 8: Histopathologische Ergebnisse der präoperativen Biopsiegruppe

5.5 Histopathologische Ergebnisse der Nierentumoren in der präoperativen Gruppe

Der positive Malignitätsnachweis in Rahmen der Biopsie zog eine operative Tumorentfernung nach sich. Beim Onkozytomnachweis erfolgte eine operative Therapie später nur im Fall einer deutlicher Größenzunahme (Hämaturiegefahr) (in Rahmen der Nachbeobachtung bei CT bzw. MRT-Untersuchung) oder auf Wunsch der Patienten bzw. bei indifferenter Klassifikation. Bei 20 von 25 Patienten (80%) Patienten wurde eine Operation durchgeführt. Bei drei Patienten (12%) konnte eine Operation vermieden werden. Im Fall Nr. 2305 hat der Patient auf eigenes Risiko die operative Therapie bei histologisch gesichertem Nierenzellkarzinom abgelehnt. Im Fall Nr. 3005 ist der Patient präoperativ an einem Myokardinfarkt verstorben. In 11 (55%) Fällen wurde eine radikale Tumornephrektomie und in neun Fällen (45%) eine partielle Tumornephrektomie durchgeführt.

Die Ergebnisse der präoperativen Biopsie sind mit dem endgültigen Histologiebefund des Tumornephrektomiepräparates verglichen worden. Insgesamt zeigten sich 13 klarzellige NZK (65%), ein papilläres NZK (5%), ein chromophobes NZK (5%), ein Ductus-Bellini-Karzinom (5%), drei Onkozytome (15%). In einem Fall wurde kein Tumorgewebe nachgewiesen (5%). Die histopathologischen Ergebnisse der untersuchten Tumorpräparate in der präoperativen Gruppe sind in der Tabelle 14 dargestellt.

Tab. 14: Histopathologische Ergebnisse der untersuchten Tumorpräparate in der präoperativen Gruppe

Histopathologische Klassifizierung	n	Tumornummer
- klarzelliges NZK	13	8504, 8604, 6305, 9705, 1704, 7205, 9305, 3505, 7304, 0504, 2305, 3005, 6405, 4805
- papilläres NZK	1	2204
- Ductus-Bellini-Karzinom	1	7905
- Onkozytom	3	9305, 1305, 8904,
- chromophobes NZK	1	9505
- keine Malignität	1	10306

In 18 von 20 Fällen (90%) stimmte die Diagnose zwischen Biopsie und Nephrektomiepräparat überein.

Im Fall Nr. 9505 wurde im Biopsiematerial ein indifferenter Tumor mit Verdacht auf ein onkozytäres Adenom diagnostiziert. Dabei beschrieb der Pathologe, dass zur Untersuchung nur spärliches Material zur Verfügung stand. Aufgrund dieser Konstellation wurde sofort die Tumornephrektomie durchgeführt. Im Tumornephrektomiepräparat wurde ein chromophobes Nierenzellkarzinom festgestellt.

In einem anderen Fall Nr. 4805 ergab die histologische Untersuchung der Biopsie einen unauffälligen Befund. Bei bestehendem Verdacht auf einen Malignom erfolgte die operative Nierenfreilegung mit anschließender Tumornephrektomie. Histopathologisch war ein klarzelliges Nierenzellkarzinom zu verzeichnen.

Im Fall Nr. 10306 konnte in der Biopsie kein Tumor nachgewiesen werden. Nach der partiellen Tumornephrektomie war im definitiven histopathologischen Befund ebenfalls kein Tumor nachweisbar. Die falsch negative Rate lag bei 10% (pro Fall). Pro Biopsie betrug die falsch negative Rate ebenfalls 10%.

In der präoperativen Tumorgruppe betrug die Sensitivität der Biopsie bezüglich der Dignität 90%. Die falsch negative Rate betrug 10% (zwei Fälle). Die Spezifität lag bei 100%. In der Tabelle 15 wurden die Ergebnisse von der Biopsie und vom Nephrektomiepräparat zusammengefasst.

Tab. 15: Ergebnisse der präoperativen Gruppe

Fall-Nr.	Tumorgroße (cm)	Histologie-Biopsie (präoperativ)	Histologie-Präparat (postoperativ)
6405	2,5 x 2,5	Leiomyom	keine Operation
9505	4,5 x 4,5	onkozytär differenzierter Tumor	chromophobes NZK
8504	1,5 x 1,5	klarzelliges NZK	klarzelliges NZK
8604	3,2 x 2,4	klarzelliges NZK	klarzelliges NZK
6305	4 x 3,5	klarzelliges NZK	klarzelliges NZK
9705	3 x 2,9	klarzelliges NZK	klarzelliges NZK
9305	2,4 x 2,3	onkozytär differenzierter Tumor	Onkozytom
4805	2,5 x 2,2	kein Tumornachweis	klarzelliges NZK
1704	5 x 5	klarzelliges NZK	klarzelliges NZK
7205	3,2 x 2,6	klarzelliges NZK	klarzelliges NZK
1305	1,4 x 1,2	onkozytär differenzierter Tumor	Onkozytom
7905	2 x 1,5	Adenokarzinom	Ductus-Bellini-Karzinom
72051	2,8 x 2,2	klarzelliges NZK	klarzelliges NZK
3505	3,2 x 3	klarzelliges NZK	klarzelliges NZK
7304	4 x 2,5	klarzelliges NZK	klarzelliges NZK
0504	4 x 3,9	klarzelliges NZK	klarzelliges NZK
2305	2,8 x 2,6	klarzelliges NZK	keine Operation
2104	3,1 x 3,1	papilläres NZK	papilläres NZK
2204	2,6 x 2,5	Onkozytom	keine Operation
8904	3,5 x 3,3	onkozytär differenzierter Tumor	Onkozytom
3005	4 x 3	klarzelliges NZK	keine Operation
6405	2,5 x 2,5	klarzelliges NZK	klarzelliges NZK
3506	2,5 x 2,5	Onkozytom	keine Operation
4306	2,5 x 2,5	klarzelliges NZK	klarzelliges NZK
10306	2,6 x 2,3	keine Malignität	keine Malignität

5.6 M-FISH Ergebnisse in der postoperativen Gruppe

5.6.1 M-FISH Ergebnisse in der postoperativen pT1a Gruppe

Die M-FISH Analyse war in der postoperativen pT1a Gruppe bei allen 20 Biopaten möglich. Basierend auf den typischen genetischen Merkmalen der Subtypen wurden vier klarzellige NZK (zwei Fälle), sechs papilläre NZK (drei Fälle) und sechs Onkozytome (drei Fälle) definiert. In vier Biopaten (zwei Fälle) konnte kein Tumorgewebe nachgewiesen werden. Damit ergibt sich folgende prozentuale Aufschlüsselung: klarzelliges NZK 20%, papilläres NZK 30%, Onkozytom 30% und in 20% der Fälle kein Tumornachweis. Von zehn Nierenläsionen waren fünf (50%) benigne. In den Fällen Nr. 3905 und 2504 wurden typische Veränderungen, die für das Vorhandensein eines klarzelligen Nierenzellkarzinoms (Verlust der Region 3p) sprechen, beobachtet. Alle Proben der klarzelligen Nierenzellkarzinome wiesen lediglich eine Deletion der Region 3p auf. In allen Fällen des klarzelligen Nierenzellkarzinoms waren beide Regionen am kurzen Arm des Chromosoms 3 deletiert. In den Fällen Nr. 9502, 3605 und 6604 waren Verluste am Chromosom 1 zu verzeichnen. Das ist charakteristisch für Onkozytome.

Bei den papillären Tumoren fanden sich zusätzlich zum Zugewinn am Chromosom 7 Zugewinne an den Chromosomen 17 und 3. Trisomien von Chromosomen 7, 17 und 3 waren in den Fällen Nr. 0705, 7604 und 0204 nachweisbar.

Im Fall Nr. 3204 wurden keine genetischen Alterationen gefunden. Anschließend wurden die M-FISH Ergebnisse mit Ergebnissen der Biopsie und Tumornephrektomie verglichen.

In neun Fällen (90%) beobachteten wir eine völlige Übereinstimmung der genetischen Ergebnisse mit den histopathologischen Biopsieergebnissen. Im Fall Nr. 0705 (10%) waren Trisomien der Chromosomen 3, 7 und 17 zu verzeichnen. Das ist typisch für papilläre Nierenzellkarzinome. Aus der histopathologischen Analyse des Biopsiematerials ergab sich jedoch keinen Malignitätsnachweis. Die histopathologische Untersuchung des Tumornephrektomiepräparates bestätigte den Befund des papillären NZK. Das heißt, dass die Sensitivität der M-FISH Untersuchung in o.g. Gruppe bei 100% lag. Die genetische Untersuchung erbrachte in dieser Gruppe eine um 10% höhere diagnostische Sicherheit.

Im Fall Nr. 2604 wurde in der Biopsie lediglich fibrotisches Material gefunden. Die genetische Untersuchung bestätigte den o.g. Befund. Aufgrund des bestehenden Verdachtes auf Malignom erfolgte die partielle Tumornephrektomie. Die histopathologische Bewertung zeigte, dass es sich um ein klarzelliges Nierenzellkarzinom handelt.

Im Fall Nr. 3204 wurde sowohl in der Biopsie als auch im Nephrektomiepräparat kein Tumor nachgewiesen. Die M-FISH zeigte ebenfalls keine genetischen Alterationen, so dass die Spezifität in der pT1a-Gruppe 100% betrug.

Die M-FISH Ergebnisse der postoperativen Gruppe mit einer Tumorgröße kleiner als 4 cm sind in der Tabelle 16 dargestellt. Dabei ist die Anzahl der Fluoreszenzsignale pro Chromosom dargestellt. Bei genetisch unveränderten Chromosomen liegen zwei Signale vor.

Tab. 16: M-FISH Ergebnisse der postoperativen Gruppe mit einer Tumorgröße kleiner als 4 cm

n-diploid Set; **v**-Verlust am Chromosom; **g**-Zugewinn des Chromosoms; **(%)**-Anteil der veränderten Zellkernen

Fall Nr.	Chr. 6	Chr. 2	Chr. 9	Chr. 1	Chr.- Reg.3/1	Chr.- Reg.3/2	Chr. 7	Chr. 17
0705	n	n	n	n	g(90%)	g(89%)	g(64%)	g(70%)
3204	n	n	n	n	n	n	n	n
7604	n	n	n	n	g(88%)	g(91%)	g(75%)	g(69%)
2604	n	n	n	n	n	n	n	n
6604	n	n	n	v(86%)	n	n	n	n
3904	n	n	n	n	v(83%)	v(76%)	n	n
3605	n	n	n	v(84%)	n	n	n	n
0204	n	n	n	n	g(89%)	g(91%)	g(66%)	g(73%)
9502	n	n	n	v(90%)	n	n	n	n
2504	n	n	n	n	v(82%)	v(79%)	n	n

Die histopathologischen und genetischen Ergebnisse der Biopsien und aus den Tumornephrektomiepräparaten sind in der Tabelle 17 zusammenfassend dargestellt.

Tab.17: Ergebnisse der postoperativen Gruppe mit einer Tumorgöße kleiner als 4 cm

Fall Nr.		Histologie-Biopsie (präoperativ)	Histologie-Präparat (postoperativ)	FISH- Ergebnisse	FISH-Bewertung
0705	R	kein Tumor	papilläres NZK	+7; +17; +3p	papilläres NZK
	L	kein Tumor		+7; +17; +3p	papilläres NZK
3204	R	Fibrose, normal	keine Malignität	keine Alterationen	unauffällig
	L	Gefäßzerstörung		keine Alterationen	unauffällig
7604	R	papilläres NZK	papilläres NZK	+7; +17; +3p	papilläres NZK
	L	papilläres NZK		+7; +17; +3p	papilläres NZK
2604	R	Fibrose	klarzelliges NZK	keine Alterationen	unauffällig
	L	Fibrose		keine Alterationen	unauffällig
6604	R	Onkozytom	Onkozytom	-1	Onkozytom
	L	Onkozytom		-1	Onkozytom
3904	R	klarzelliges NZK	klarzelliges NZK	-3p	klarzelliges NZK
	L	klarzelliges NZK		-3p	klarzelliges NZK
3605	R	Onkozytom	Onkozytom	-1	Onkozytom
	L	Onkozytom		-1	Onkozytom
0204	R	papilläres NZK	papilläres NZK	+3; +7; +17	papilläres NZK
	L	papilläres NZK		+3; +7; +17	papilläres NZK
9502	R	Onkozytom	Onkozytom	-1	Onkozytom
	L	Onkozytom		-1	Onkozytom
2504	R	klarzelliges NZK	klarzelliges NZK	-3p	klarzelliges NZK
	L	klarzelliges NZK		-3p	klarzelliges NZK

5.6.2 M-FISH Ergebnisse in der postoperativen Gruppe pT1b

Die M-FISH Analyse wurde in der postoperativen pT1b Gruppe lediglich bei 17 Biopaten durchgeführt. In den Biopsien der Fälle Nr. 0104, 9704 und 4005 (15%) war histopathologisch in jeweils einer Biopsie eine Fibrose nachweisbar. Unter 17 durchgeführten genetischen Untersuchungen befanden sich 12 klarzellige NZK (sieben Fälle) und fünf

papilläre NZK (drei Fälle). Damit ergibt sich folgende prozentuale Aufschlüsselung: klarzelliges NZK 70% der Fälle und papilläres NZK 30% der Fälle.

Bei den klarzelligen Tumoren fanden sich neben dem Verlust in 3p auch Verluste von Chromosom 6 (54%). In den Fällen Nr. 0704, 5204, 1704 und 9704 wurden Verluste in 3p und von Chromosom 6 beobachtet. Die Fälle Nr. 9505, 4005 und 0204 wiesen lediglich einen Verlust in 3p auf. Alle untersuchten Proben der klarzelligen Nierenzellkarzinome offenbarten eine Deletion der beiden Regionen am kurzen Arm des Chromosoms 3.

Die Trisomien von Chromosomen 7 und 17 waren in den Fällen Nr. 5805 und 0104 nachweisbar. Zusätzlich zu den Chromosomen 7 und 17 wurde im Fall Nr. 8404 (33%) noch ein Zugewinn von Chromosom 3 entdeckt.

Anschließend sind die M-FISH Ergebnisse mit Ergebnissen der Biopsie und Tumornephrektomie verglichen worden.

Die M-FISH Ergebnisse der postoperativen Gruppe mit einer Tumorgöße von mehr als vier cm sind in der Tabelle 18 dargestellt. Dabei ist die Anzahl der Fluoreszenzsignale pro Chromosom dargestellt.

Tab. 18: M-FISH Ergebnisse der postoperativen Gruppe mit einer Tumorgöße mehr als 4 cm

n-diploid Set; **v**-Verlust am Chromosom; **g**-Zugewinn des Chromosoms; **(%)**-Anteil der veränderten Zellkerne

Fall Nr.	Chr. 6	Chr. 2	Chr. 9	Chr. 1	Chr. Reg3/1	Chr. Reg3/2	Chr. 7	Chr. 17
5805	n	n	n	n	n	n	g(95%)	g(71%)
0104	n	n	n	n	n	n	g(93%)	g(68%)
0704	v(45%)	n	n	n	v(83%)	v(81%)	n	n
5204	v(65%)	n	n	n	v(69%)	v(56%)	n	n
1704	v(86%)	n	n	n	v(76%)	v(80%)	n	n
9505	n	n	n	n	v (90%)	v(89%)	n	n
0204	n	n	n	n	v(87%)	v(79%)	n	n
8404	n	n	n	n	g(95%)	g(89%)	g(75%)	g(79%)
9704	v(67%)	n	n	n	v(91%)	v(88%)	n	n
4005	n	n	n	n	v(85%)	v(78%)	n	n

Insgesamt beobachteten wir eine komplette Übereinstimmung der genetischen Resultate mit den histopathologischen Ergebnissen. Die Sensitivität betrug in dieser Gruppe 100%.

Die histopathologischen und genetischen Ergebnisse der Biopsien und der Nephrektomiepräparate werden in der Tabelle 19 zusammenfassend dargestellt.

Tab. 19: Ergebnisse der postoperativen Gruppe mit einer Tumorgöße mehr als 4 cm

Fall-Nr.		Histologie-Biopsie	Histologie-Präparat	FISH-Ergebnisse	FISH-Bewertung
5805	R	papilläres NZK	papilläres NZK	+7; +17	papilläres NZK
	L	papilläres NZK		+7; +17	papilläres NZK
0104	R	Fibrose	papilläres NZK	nicht untersucht	-
	L	papilläres NZK		+7; +17	papilläres NZK
0704	R	klarzelliges NZK	klarzelliges NZK	-3p; -6	klarzelliges NZK
	L	klarzelliges NZK		-3p; -6	klarzelliges NZK
5204	R	klarzelliges NZK	klarzelliges NZK	-3p; -6	klarzelliges NZK
	L	klarzelliges NZK		-3p; -6	klarzelliges NZK
1704	R	klarzelliges NZK	klarzelliges NZK	-3p; -6	klarzelliges NZK
	L	klarzelliges NZK		-3p;-6	klarzelliges NZK
9505	R	klarzelliges NZK	klarzelliges NZK	-3p	klarzelliges NZK
	L	klarzelliges NZK		-3p	klarzelliges NZK
0204	R	klarzelliges NZK	klarzelliges NZK	-3p	klarzelliges NZK
	L	klarzelliges NZK		-3p	klarzelliges NZK
8404	R	papilläres NZK	papilläres NZK	+17; +7; +3p	papilläres NZK
	L	papilläres NZK		+17; +7; +3p	papilläres NZK
9704	R	klarzelliges NZK	klarzelliges NZK	-3p; -6	klarzelliges NZK
	L	Fibrose		nicht untersucht	-----
4005	R	klarzelliges NZK	klarzelliges NZK	-3p	klarzelliges NZK
	L	Fibrose		nicht untersucht	-----

5.6.3 M-FISH Ergebnisse in der präoperativen Gruppe

Die präoperative Gruppe bestand aus 25 Patienten und es sind insgesamt 22 M-FISH Analysen (eine pro Tumor) durchgeführt worden. In den drei verbliebenen Fällen wurde kein Tumorgewebe zur genetischen Untersuchung bereitgestellt. Die genetische Untersuchung war bei 21 Biopaten (95,5%) möglich.

Die Klassifikation erfolgte basierend auf den typischen genetischen Merkmalen der Nierenzellkarzinomsubtypen. Unter 22 durchgeführten genetischen Untersuchungen befanden sich 15 klarzellige NZK (68,2%), ein papilläres NZK (4,5%), zwei Onkozytome (9%), zwei unklassifizierbare Tumore (9%) und ein Fall ohne Malignitätsnachweis (4,5%). Im Fall Nr. 1305 (4,5%) war die genetische Klassifikation aufgrund der fehlenden Zellkerne nach der Präparation nicht möglich.

Von 22 Nierenläsionen waren vier (18%) benigne. In den Fällen Nr. 8504, 8604, 6305, 9705, 4805, 7205, 3505, 0504, 2305, 3005, 6405 und 4306 wurden typische Veränderungen des klarzelligen Nierenzellkarzinoms als Verlust von Region 3p beobachtet. In den Fällen Nr. 1704 und 7304 waren zusätzlich zur Deletion am kurzen Arm des Chromosoms 3 Verluste von Chromosom 6 zu verzeichnen. Verluste an den Chromosomen 3, 6, 9, 7 und 17 wurden im Fall Nr. 7205 gefunden. Alle Proben der klarzelligen Nierenzellkarzinome wiesen eine Deletion der beiden Regionen des Chromosoms 3p auf. Bei klarzelligen Nierentumoren zeigten sich weiterhin neben dem Verlust auf 3p Region Verluste der Chromosomen 6 (20%), 9 (6,7%), 7 (6,7%) und 17 (6,7%).

Bei den papillären Tumoren fand sich im Fall Nr. 2104 zusätzlich zum Chromosom 7 ein Zugewinn des Chromosoms 17.

Bei Onkozytomen in den Fällen Nr. 3506 und 9305 war lediglich eine Monosomie des Chromosoms 1 zu beobachten.

Der Verlust am Chromosom 7 im Fall Nr. 6405 und die Verluste an Chromosomen 7 und 17 im Fall Nr. 7905 konnten nicht zugeordnet werden. Im Fall Nr. 9505 sind keine genetischen Alterationen gefunden worden.

Anschließend sind die M-FISH Ergebnisse mit Ergebnissen der Biopsie und nach Tumornephrektomie verglichen worden.

In 19 Fällen beobachteten wir eine völlige Übereinstimmung der genetischen Ergebnisse mit den Biopsieergebnissen und den Ergebnissen der Tumornephrektomiepräparate.

Tab. 20: M-FISH Ergebnisse der präoperativen Gruppe

n-diploid Set; **v**-Verlust am Chromosom; **g**-Zugewinn des Chromosoms; **(%)**-Anteil der veränderten Zellkernen

Fall Nr.	Chr. 6	Chr. 2	Chr. 9	Chr. 1	Chr.-Reg3/1	Chr.-Reg3/2	Chr. 7	Chr. 17
6405	n	n	n	n	n	n	v(90%)	n
9505	n	n	n	n	n	n	n	n
8504	n	n	n	n	v(91%)	v(87%)	n	n
8604	n	n	n	n	v(88%)	v(85%)	n	n
6305	n	n	n	n	v(87%)	v(90%)	n	n
9705	n	n	n	n	v(83%)	v(77%)	n	n
9305	n	n	n	v(86%)	n	n	n	n
4805	n	n	n	n	v(59%)	v(57%)	n	n
1704	v(85%)	n	n	n	v(84%)	v(78%)	n	n
7205	v(69%)	n	v (55%)	n	v(89%)	v(91%)	v(76%)	v(80%)
7905	n	n	n	n	n	n	v(85%)	v(90%)
7206	n	n	n	n	v(90%)	v(85%)	n	n
3505	n	n	n	n	v(87%)	v(91%)	n	n
7304	v(76%)	n	n	n	v(95%)	v(92%)	n	n
0504	n	n	n	n	v(88%)	v(78%)	n	n
2305	n	n	n	n	v(82%)	v(86%)	n	n
2104	n	n	n	n	n	n	g(95%)	g(86%)
3005	n	n	n	n	v(85%)	v(90%)	n	n
6405	n	n	n	n	v(84%)	v(77%)	n	n
1305	-	-	-	-	-	-	-	-
3506	n	n	n	v(89%)	n	n	n	n
4306	n	n	n	n	v(75%)	v(64%)	n	n

Im Fall Nr. 4805 war in der Biopsie histopathologisch nur chronisch entzündlich verändertes Nierengewebe nachweisbar. Die M-FISH zeigte aber typische genetische Alterationen für das Vorhandensein eines klarzelligen Nierenzellkarzinoms. Es erfolgte die operative Nierenfreilegung mit anschließender Tumornephrektomie, dabei war im Präparat ein

klarzelliges NZK nachweisbar. Das heißt, dass die M-FISH Methode in diesem Fall mehr diagnostische Sicherheit erbrachte.

Im Fall Nr. 9505 wurde in der Biopsie histopathologisch ein onkozytär differenzierter Tumor diagnostiziert. Genetisch konnte das aber nicht bestätigt werden, es waren keine Chromosomalterationen nachweisbar. Aufgrund dieser Diskrepanz und bestehenden dringenden Tumorverdacht erfolgte eine operative Therapie. Im endgültigen Befund wurde ein chromophobes Nierenzellkarzinom festgestellt.

Im Fall Nr. 6405 wurde histopathologisch im Biopsiematerial ein Leiomyom diagnostiziert. Die M-FISH zeigte einen Verlust von Chromosom 7. Daher war die operative Therapie nicht erforderlich. Im Nachbeobachtungszeitraum von 12 Monaten kam es in diesem Fall zu keinerlei Veränderungen.

Im Fall Nr. 7905 war histopathologisch im Biopsiematerial ein Adenokarzinom nachweisbar, im endgültigen Befund des Tumornephrektomiepräparates stellte sich dieses als Ductus-Bellini-Karzinom dar. Die genetische Untersuchung zeigte die fehlenden Signale auf Chromosomen 7 und 17.

Anhand dieser Daten lässt sich ableiten, dass die Sensitivität der M-FISH Untersuchung in der o.g. Gruppe bei 95,2% lag. Die genetische Untersuchung erbrachte in dieser Gruppe 5,2% mehr diagnostische Sicherheit im Vergleich zur konventionellen histopathologischen Untersuchung vom Biopsiematerial. Die M-FISH Ergebnisse der präoperativen Gruppe sind in der Tabelle 20 dargestellt.

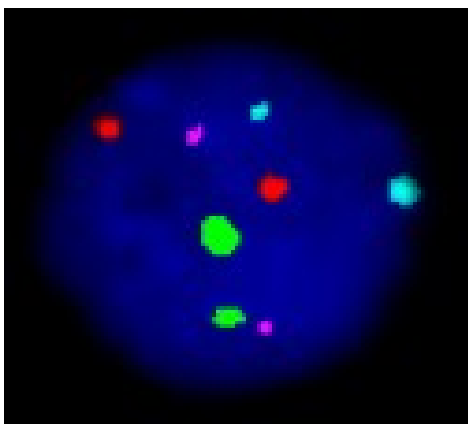
Die histopathologischen und genetischen Ergebnisse der Biopsien und der Nephrektomiepräparate in der präoperativen Gruppe sind in der Tabelle 21 zusammengefasst worden.

Tab. 21: Ergebnisse der präoperativen Gruppe

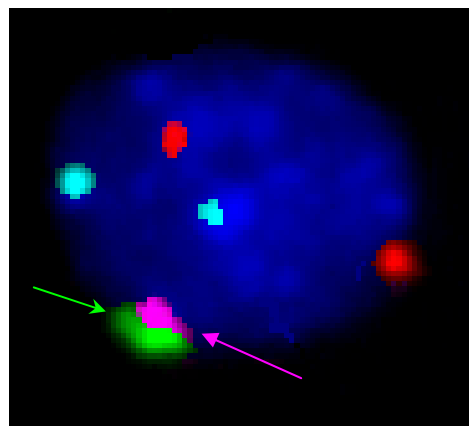
Fall-Nr.	Histologie-Biopsie	Histologie-Präparat	FISH-Ergebnisse	FISH-Bewertung
6405	Leiomyom	keine Operation	-7	unspezifisch
9505	onkozytär differenzierter Tumor	chromophobes NZK	n	normal
8504	klarzelliges NZK	klarzelliges NZK	-3p	klarzelliges NZK
8604	klarzelliges NZK	klarzelliges NZK	-3p	klarzelliges NZK
6305	klarzelliges NZK	klarzelliges NZK	-3p	klarzelliges NZK
9705	klarzelliges NZK	klarzelliges NZK	-3p	klarzelliges NZK
9305	onkozytär differenzierter Tumor	Onkozytom	-1	Onkozytom
4805	Pyelonephritis; kein Tumornachweis	klarzelliges NZK	-3p	klarzelliges NZK
1704	klarzelliges NZK	klarzelliges NZK	-3p; -6	klarzelliges NZK
7205	klarzelliges NZK	klarzelliges NZK	-3p; -6; -9; - 7; -17	klarzelliges NZK
1305	onkozytär differenzierter Tumor	Onkozytom	nicht möglich	-----
7905	Adenokarzinom	Ductus-Bellini- Karzinom	-7;-17	unspezifisch
7206	klarzelliges NZK	klarzelliges NZK	-3p	klarzelliges NZK
3505	klarzelliges NZK	klarzelliges NZK	-3p	klarzelliges NZK
7304	klarzelliges NZK	klarzelliges NZK	-3p;-6	klarzelliges NZK
0504	klarzelliges NZK	klarzelliges NZK	-3p	klarzelliges NZK
2305	klarzelliges NZK	keine Operation	-3p	klarzelliges NZK
2104	papilläres NZK	papilläres NZK	+7;+17	papilläres NZK
2204	Onkozytom	keine Operation	-	kein Material
8904	onkozytär differenzierter Tumor	Onkozytom	-	kein Material
3005	klarzelliges NZK	keine Operation	-3p	klarzelliges NZK
6405	klarzelliges NZK	klarzelliges NZK	-3p	klarzelliges NZK
3506	Onkozytom	keine Operation	-1	Onkozytom
4306	klarzelliges NZK	klarzelliges NZK	-3p	klarzelliges NZK
2106	keine Malignität	keine Malignität	-	kein Material

In die folgenden Abbildungen sind die Fluoreszenzbilder der häufigsten histologischen Typen des Nierenzellkarzinoms dargestellt. Die Zelltypen der Nierenzelltumore wurden mit CCD-Kamera aufgenommen. Die Sonden für verschiedene Chromosomen sind in verschiedenen Pseudofarben dargestellt:

- Chromosom 1 und 17-DEAC (blau)
- Chromosom 2 und 7-„Spektrum Orange“ (orange)
- Chromosom 9 und 3p21p12-„Texas Red“ (rose)
- Chromosom 6 und 3p25pter-„Spektrum Green“ (grün)



TEST 1 (normal)

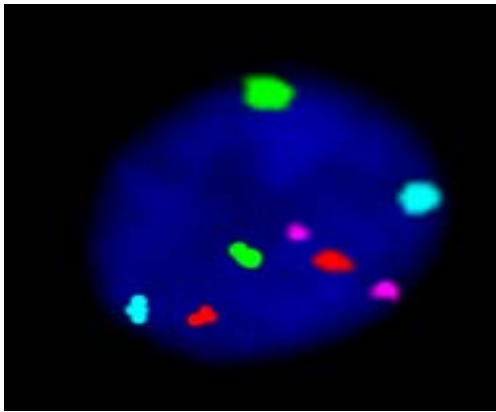


TEST 2 (-3p)

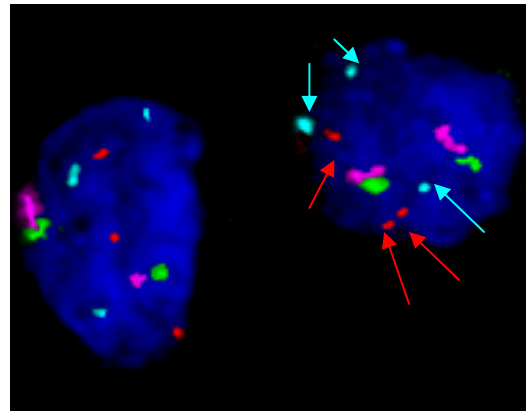
Abb. 9: Fluoreszenzbilder eines Interphasekerns des Falls 3904 (klarzelliges NZK): im Test „1“- sind je zwei Signale für alle Chromosomen vorhanden; im Test „2“-ist nur je ein grünes und rotes Signal vorhanden; dies entspricht einem Verlust auf 3p

Die Abbildung 9 zeigt die Fluoreszenzbilder eines Zellkerns des Falls Nr. 3904. Ein Verlust auf 3p-Region ist typisch für klarzelliges Nierenzellkarzinom.

Die folgende Abbildung zeigt die Fluoreszenzbilder eines Zellkerns des Falls (0705). Die Veränderungen im Test „2“ entsprechen die Trisomien der Chromosomen 7 und 17 und somit einem papillären Nierenzellkarzinom.



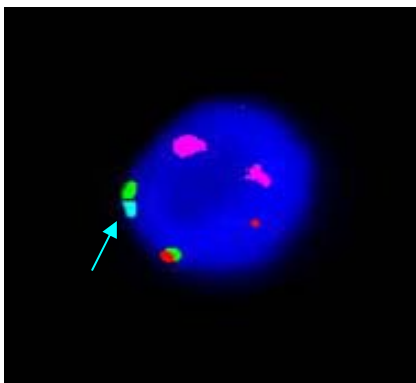
TEST 1 (normal)



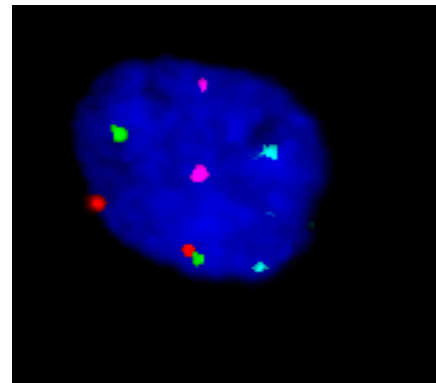
TEST 2 (+7, +17)

Abb. 10: Fluoreszenzbilder eines Interphasekerns des Falls 0705 (papilläres NZK): im Test „1“ sind je zwei Signale für alle Chromosomen vorhanden; im Test „2“-sind drei blaue und drei rote Signale vorhanden

Die Abbildung 11 zeigt für das Onkozytom typische genetische Veränderungen im Sinne einer Monosomie des Chromosoms 1.



TEST 1 (-1)



TEST 2 (normal)

Abb. 11: Fluoreszenzbilder eines Interphasekerns des Falls 3605 (Onkozytom): im Test „1“-fehlt ein blaues Signal; im Test „2“- sind je zwei Signale für alle Chromosomen vorhanden

5.7 Komplikationen nach präoperativer Nierentumorbiopsie

Die häufigste Komplikation nach Nierentumorbiopsie war ein passagerer Flankenschmerz, der mit Hilfe von Analgetika beherrschbar war. Das beobachtete man in 8% der Fälle. Die Entwicklung eines klinisch irrelevanten subkapsulären Hämatoms war in 4% der Biopsien zu beobachten.

In einem Fall 3506 (4%) war postbioptisch ein perirenales Hämatom (5x3 cm) zu verzeichnen. In dem Fall war die Transfusion von insgesamt zwei Transfusionseinheiten notwendig. Die Rate von transfusionspflichtigen renalen Hämorrhagien betrug 4%.

Nebenwirkungen der Biopsie im Sinne von Nachbarorganenverletzungen bzw. Stichkanalmetastasen waren bei einer Nachbeobachtungszeit von 12 bis 24 Monaten nicht zu beobachten.

5.8 Fallvorstellung

Welche differentialdiagnostischen Schwierigkeiten die Abklärung einer renalen Raumforderung bereiten kann, soll folgende Kasuistik verdeutlichen.

Es handelte sich um einen 24-jährigen Patienten mit dem Verdacht auf einen malignen Nierentumor, der als Zufallbefund zuerst sonographisch, später computertomographisch im Rahmen der Abklärung einer Synkope entdeckt wurde. Zusätzlich war noch eine Raumforderung in der Leber, die einer Metastase entsprechen könnte, beschrieben worden. Anamnestisch bemerkenswert waren rezidivierend auftretende Rückenschmerzen links, zusätzlich ein Gewichtsverlust von sieben kg in den letzten vier Wochen und deutlich erhöhte Entzündungsparameter (CRP von 194). Im Rahmen des Aufnahmebefundes fiel ein deutlich dolentes Nierenlager links auf. Der Urinbefund zeigte keinen Hinweis für entzündliche Veränderungen. Zur Diagnosefindung wurde zunächst der Urin auf Tb-Erreger untersucht. Das Ergebnis war negativ.

Da die im CT geäußerte Raumforderung der Leber sonographisch nativ nicht nachvollziehbar war, wurde eine Kontrastmittelsonographie durchgeführt. Auch hier ließ sich kein Hinweis für die im CT beschriebene Raumforderung finden. Eine Verlaufskontrolle wurde empfohlen.

Das renosonographische Bild zeigte eine 2,6 x 2,3 cm messende zystisch erscheinenden Nierentumor mit verdickter Wandung (KM-Enhancement) unklarer Dignität auf der linken Seite am oberen Nierenpol (Abbildung 12). Die rechte Niere war unauffällig.

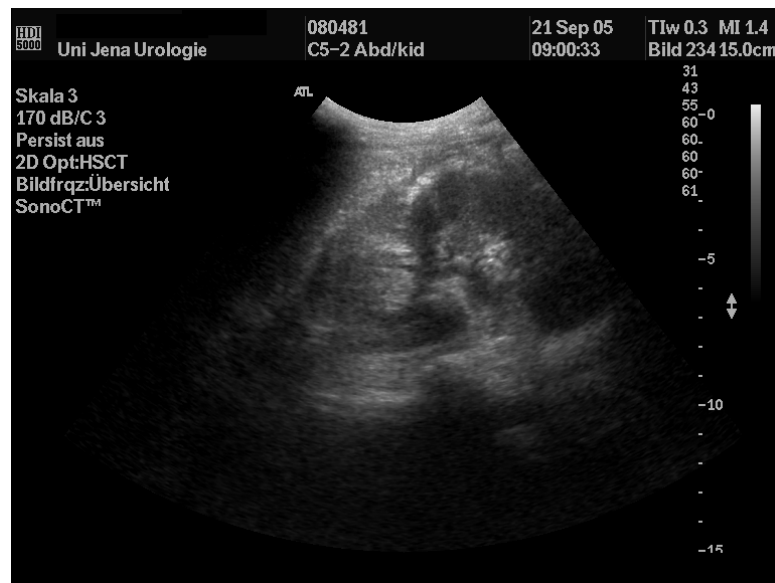


Abb. 12: Sonographische Darstellung der linken Niere bei einer 24-jährigen Patientin

Die Duplex-Sonographie erbrachte eine Perfusion der Raumforderung (Abbildung 13).

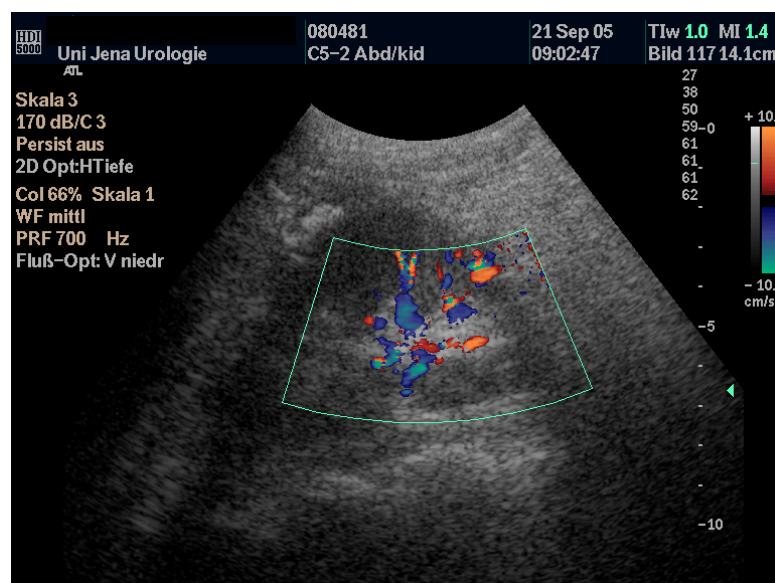


Abb. 13: Doppler-sonographische Darstellung der linken Niere

Im Kontrastmittel-Computermogramm fand sich eine Raumforderung am oberen Pol mit Kontrastmittel-Enhancement und zystischen Komponenten. Der Verdacht auf einen zystischen Nierentumor wurde geäußert (Abbildung 14).



Abb. 14: Kontrastmittel-CT, linksseitiger Tumorverdacht

Zur präoperativen Abklärung des unklaren Befundes erfolgte eine ultraschallgestützte Feinnadelbiopsie. Histologisch war repräsentativer Nierenzylinder mit regelrecht strukturierenden Glomerula zu verzeichnen, insgesamt kein Anhalt für Malignität.

Bei Diskrepanz zwischen klinischem Bild, bildgebenden und histologischen Befunden musste zum Ausschluss eines malignen Nierentumors eine operative Nierenfreilegung erfolgen. Intraoperativ zeigte sich sowohl makroskopisch und sonographisch kein Korrelat für einen Nierentumors, so dass letztendlich nur eine Probeexzision an der Biopsiestelle erfolgte. Erst die histopathologische Aufarbeitung des Präparates konnte die Dignität des raumfordernden Prozesses endgültig klären. Es handelte sich um eine chronisch-fortdauernde herdförmige Entzündung.

6 DISKUSSION

Das klinische Erscheinungsbild der Nierenzellkarzinome hat sich in den letzten Jahrzehnten wesentlich verändert. Gründe hierfür sind die demographische Entwicklung einerseits und andererseits die Verbesserung der Bildgebung. Auch auf histologischem Gebiet konnte nachgewiesen werden, dass unter dem ehemals homogenen Bild des Nierenzellkarzinoms sich heute Subtypen verbergen. Nach wie vor begegnen dem Kliniker fortgeschrittene Nierenzellkarzinome, aber in über 80% liegen inzidentelle kleine Tumoren vor. Eine Problematik stellt die Frage nach der therapeutischen Konsequenz kleiner Nierenzellkarzinome bei alten oder multimorbiden Patienten dar. In der urologischen Onkologie wird diese Patientengruppe gegenwärtig different behandelt. Das Spektrum reicht von einer „wait and see-Strategie“ über die radikale Operation des Tumors bzw. partielle Nephrektomie bis zu minimal-invasiven Verfahren (Radiofrequenz, Kryoablation) und ohne vorherige histologische Sicherung des Tumors. Diese differente Vorgehensweise ist neben einer unterschiedlichen Patientenbelastung und medizinisch-ökonomischem Ressourcenverbrauch auf eine fehlende Einschätzung der biologischen Aktivität des vorliegenden Nierentumors zurückzuführen.

Während bei zahlreichen Tumoren (Mammakarzinom, Prostatakarzinom, Schilddrüsenkarzinom, Harnblasenkarzinom) vor Einleitung einer umfassenden kurativen oder systemischen Therapie die bioptisch gesicherte Histologie die Grundlage bildet, wird ein solches Vorgehen beim Nierenzellkarzinom bisher nicht praktiziert. Ursachen hierfür sind die in der Vergangenheit schlechten Ergebnisse nierenbiptischer Untersuchungen. Gründe hierfür waren ungenügende Materialgewinnung aufgrund einer unsicheren Entnahmetechnik und damit der schlechten Ausgangslage für den Histopathologen. Außerdem war bei dem Vorliegen vorwiegend sehr großer Lokalbefunde, die zu über 90% Nierenzellkarzinome präsentierten, die präoperative histologische Sicherung von untergeordneter Bedeutung.

Erst mit dem Vorkommen überwiegend sehr kleiner Nierentumoren unklarer Dignität bei älteren Patienten, einer Optimierung der Biopsietechnik im Allgemeinen ergibt sich jetzt die Frage nach einer Überprüfung des Stellenwertes der Nierentumorbiopsie in der Gegenwart. Sollte die Nierentumorbiopsie repräsentative Ergebnisse zeigen, könnten Patienten unnötige Operationen erspart und medizinisch-ökonomische Ressourcen gespart werden.

Im Vordergrund der vorliegenden Arbeit standen deshalb Fragen über repräsentative Entnahmeregionen aus dem Nierentumor bei der Biopsie, die Überprüfung der Optimierung der technischen Durchführbarkeit der Nierentumorbiopsie, eine Bewertung der

histopathologischen Biopsieergebnisse hinsichtlich ihrer Repräsentanz für den Gesamttumor, eine Überprüfung einer molekularbiologischen Methode in Form des M-FISH Verfahrens zur weiteren Diagnosekomplettierung und Fragen des Komplikationsspektrums der Nierentumorbiopsie.

6.1 Wo soll die Biopsie entnommen werden?

Von insgesamt 293 durchgeführten Tumor-Nephrektomien in der Klinik für Urologie der FSU Jena in Zeitraum von März 1998 bis Dezember 2003 hatten 115 eine Tumorgroße unter vier und 178 eine Tumorgroße von mehr als vier cm. Bei der Analyse zeigte sich generell eine Zunahme der Zentralnekrotisierung und/oder Fibrosierung von 30% (bei der Tumorgroße bis zwei cm) bis 90% (bei der Tumoren größer als zehn cm). Zusätzlich beobachtete man eine Zunahme der Nekrosen in der peripheren Tumorzone von 0% (Tumorgroße bis zwei cm) bis 59% (Tumorgroße mehr als zehn cm) mit der Tumorgroße. Daraus lässt sich ableiten, dass schon bei einer Tumorgroße ab zwei cm eine zentrale Biopsie vermieden werden sollte. Aufgrund der Nekrosezunahme in der peripheren Tumorzone mit der Tumorgroße sollten wenigstens zwei Biopsien entnommen werden (siehe Seite 67 und 72). Im Weiteren wurden die Tumore größer und kleiner als vier cm separat analysiert. Wir beobachteten Zentralnekrosen in Präparaten bei einer Tumorgroße unter vier cm in 56%, bei Tumoren größer als vier cm in 87% der Fälle. Wunderlich et al. berichteten von einem erhöhten Fibrose- und/oder Nekroseanteil in 250 Nierentumorbiopsaten in Abhängigkeit von der Tumorgroße. In Tumoren größer als vier cm beobachtete man in der zentral gewonnenen Biopsie bis zu 30% Nekrose oder Fibrose, bei einer Tumorgroße bis vier cm in 16% der Fälle (Wunderlich et al. 2005). Zusammenfassend kann man sagen, dass die peripher entnommenen Biopsien mehr diagnostische Sicherheit erbringen.

Aufgrund der angegebenen Literaturdaten und unserer eigenen Ergebnisse empfehlen wir eine gezielte Biopsie ins periphere Tumorgebiet und die Entnahme von wenigstens zwei Biopsien.

6.2 Diskussion der histopathologischen Ergebnisse der Nierentumoren und der Nierentumorbiopsien in der postoperativen Gruppe

Wie vorn betont bestand die Notwendigkeit, am Operationspräparat (Tumornephrektomiepräparat) die Gewebeprobe zu entnehmen und somit Fehlermöglichkeiten der Biopsie bei Patienten (Biopsietechnik, Atmung des Patienten, Tumordarstellung) zu umgehen. Damit sollte sicheres Tumormaterial hinsichtlich der

histopathologischen Bewertung und der M-FISH Methode analysiert werden. Damit sollten die entsprechenden Voruntersuchungen für den präoperativen Einsatz geschaffen werden.

Bei insgesamt 20 Tumornephrektomiepräparaten beobachteten wir zehn klarzellige NZK (50%), davon drei in der pT1a-Gruppe und sieben in der pT1b-Gruppe. Ein papilläres Nierenzellkarzinom war in sechs Fällen nachweisbar (30%), drei Fälle pT1a und drei Fälle pT1b. In unserer Arbeit fanden sich Onkozytome in der pT1a Gruppe mit einer Häufigkeit von 15% (3x). Wunderlich et al. beobachteten in vier Fällen (8%) von 50 Tumoren (30 Tumore < 4 cm; 20 > 4 cm) ein Onkozytom (Wunderlich et al. 2005). Vasudevan et al. haben bei Nierentumoren mit Größe bis fünf cm eine diagnostische Stanzbiopsie durchgeführt. Dabei wurde in 33% der Tumorbioptaten einen benignen Befund festgestellt. Das Onkozytom war in ca. 20% der Fälle zu beobachten (Vasudevan et al. 2006). Das weist im Vergleich mit den Literaturdaten aus Sektionsstatistiken (ca. 5%) sehr hoher Inzidenz auf (Murphy et al. 2004).

Der Fall Nr. 2604 (5%) aus der pT1a-Gruppe bestand ausschließlich nur aus einer Fibrose, obwohl im Präparat ein klarzelliges Nierenzellkarzinom nachweisbar war. Es handelte sich um einen 1,6x1 cm großen Tumor, was selbstverständlich zu Schwierigkeiten bei der bildgebenden Darstellung mittels Ultraschall in Rahmen der Biopsie führte. Die Größe des Tumors spielt offensichtlich eine limitierende Rolle bei der Diagnosestellung durch eine Biopsie.

In der pTa-Gruppe betrug die falsch negative Rate 20% (vier Biopsien). In der postoperativen Tumorgruppe lag die Genauigkeit der Biopsie bezüglich der Dignität bei einer Tumorgröße von kleiner als 4 cm bei 80%. Die Spezifität lag bei 100%.

In 85% aller Biopsien der Tumore größer als 4cm konnte ein Tumornachweis geführt werden. In den Fällen, in denen eine Biopsie negativ war, konnte in der zweiten Biopsie Tumorgewebe nachgewiesen werden. Das heißt, dass die Entnahme von zwei Biopsien eine höhere diagnostische Sicherheit erbringt. Daraus lässt sich ableiten, dass die Entnahme von wenigstens zwei Biopsien erforderlich ist.

In zwei von 20 peripheren Biopsien in der pT1a-Gruppe und in drei von 20 peripheren Biopsien in der pT1b-Gruppe wurde lediglich fibrotisches Material (ohne Tumornachweis) diagnostiziert. Die Häufigkeit der Fibrose war in der pT1a und pT1b-Gruppe bei 10% und 15% zu verzeichnen.

Wunderlich et al. untersuchten 50 Tumoren, postoperativ wurden am Nephrektomiepräparat eine zentrale und vier periphere Biopsien unter visuelle Kontrolle entnommen. Es wurden insgesamt 250 Stanzbiopsien mit Hilfe einer 18 Gauge Nadel durchgeführt. In der ersten

Tumorgruppe (n=30; Tumorgröße bis vier cm) lag die Genauigkeit der zentralen Biopsie bezüglich der Malignität bei 83,3% und die Genauigkeit der peripheren Biopsie bei 75%. Die Genauigkeit beider Biopsien lag bei 96,7%. Die Genauigkeit zur Definition des Tumorsprungs und des Grading war für zentrale bzw. periphere Biopsie 96% bzw. 95,5%, 84% bzw. 84,4%. In der zweiten Gruppe (n=20; Tumorgröße größer als vier cm) konnte die Malignität des Tumors durch eine zentrale Biopsie in 70% und durch eine periphere Biopsie in 66,3% definiert werden. Mit der Entnahme von drei Biopsien je Tumor erhöhte sich die Genauigkeit der Biopsie bezüglich der Tumorbilogie bis auf 95% (19/20 Fälle). Die Genauigkeit zur Definition des Tumortyps und des Grading lag für zentrale bzw. periphere Biopsie bei 100% bzw. 98,1% und 85% bzw. 94,3% (Wunderlich et al. 2005).

Nach aktuellen Literaturangaben liegt die Genauigkeit der Nierentumorbiopsie zwischen 85% und 98% (Ohmori et al. 1990, Abe 1992, Nadel et al. 1986, Hergesell et al. 1998). Die Literaturdaten bezüglich der Genauigkeit der Biopsie zur Definition der Dignität sind vergleichbar mit unseren Daten von den postoperativen Biopsien.

Die histopathologischen Ergebnisse der postoperativen Nierentumorbiopsien zeigten, dass die Sensitivität der Biopsie bei 82,5% (pro Biopsie) und 90% (pro Fall) lag, wobei beachtet werden sollte, dass die Biopsie ohne jegliche Unterstützung durch bildgebenden Verfahren am ungeschnittenen Tumornephrektomiepräparat erfolgte. Das ist aus unserer Sicht die Ursache für die relative niedrige Sensitivitätsrate.

6.3 Diskussion der histopathologischen Ergebnisse von Nierentumorbiopsien und der Tumor-Resektate in der präoperativen Gruppe

Es lassen sich hinsichtlich der Repräsentanz der Nierentumorbiopsien folgende Aussagen treffen. In den eigenen präoperativ entnommenen Biopsien (n=25) war das Material in allen Fällen repräsentativ. In der Literatur lassen sich hierzu weiterhin folgende Angaben finden.

Neuzillet et al. haben bei Nierenläsionen bis vier cm eine CT-gestützte Biopsie zur präoperativen Dignitätsklärung durchgeführt. Die Biopsie erfolgte mit 18-Gauge Nadel. Es wurden insgesamt 88 Patienten in die Studie einbezogen. Neuzillet et al. haben eine mit unseren Daten vergleichbare Suffizienzrate von 96,6% beschrieben (Neuzillet et al. 2004).

Imaide und Saitoh haben im Zeitraum von 1982 bis 1994 100 perkutane ultraschallgestützte Nierentumorbiopsien durchgeführt. Die Autoren berichteten, dass die Suffizienzrate von 100 perkutanen Nierentumorbiopsien bei 97% lag (Imaide und Saitoh 1995). Hara et al. berichteten von einer 100%-igen Suffizienzrate bei 30 Biopsien (Hara et al. 2001). Das Material von Nierentumorbiopsien war somit in verschiedenen Studien im überwiegenden

Anteil (96 bis 100%) suffizient. Dabei ist zu bedenken, dass alle Biopsien in Form von Stanzbiopsien aus der Tumorperipherie mittels Biopsiegerät entnommen worden sind.

In unserer Studie an 25 präoperativ durchgeführten Nierentumorbiopsien fanden sich histologisch 14 klarzellige NZK (56%), ein papilläres NZK (4%), ein Leiomyom (4%), ein Adenokarzinom (4%), sechs Onkozytome (24%) und zwei ohne Malignitätsnachweis (8%). Sieben Fälle (28%) der 25 Nierenläsionen waren benigne, bei zwei Tumoren (8%) fand sich in der Biopsie kein pathologischer Befund.

Neuzillet wies eine Inzidenz benigner Tumoren von mehr als 10% nach, insgesamt fand er 16% benigne Läsionen, 5% waren indifferent (Neuzillet et al. 2004). Hara et al. beobachteten in 12 Fällen (36%) bei 33 durchgeführten Nierentumorbiopsien lediglich benigne Veränderungen. Davon waren: sechs Zysten, drei renalen Abszesse und drei Angiomyolipome (Hara et al. 2001). Johnson et al. beobachteten in vier Fällen (11%) ein Onkozytom bei insgesamt 36 Nierentumorbiopsien. In einem Fall (3%) war histopathologisch ein Angiomyolipom zu verzeichnen (Johnson et al. 2001). Lechevallier et al. 2000 berichteten, dass von 73 Nierentumorbiopsien acht (11%) benigne waren. Die Tumorgroße betrug von ein bis 15 cm (MW=4 cm.) (Lechevallier et al. 2000). Caoili et al. 2002 haben von 26 ultraschallgestützten Nierentumorbiopsien in sieben Fällen (26%) eine benigne Nierenläsion diagnostiziert. Es waren drei Onkozytome (11%), zwei Angiomyolipome (7,7%) und zwei Fibrosen. Frank et al. untersuchten 2770 Tumornephrektomiepräparate und haben festgestellt, dass der Teil der benignen Nierentumoren 12,8% betrug. Dabei wurde eine Abhängigkeit der Inzidenz der benignen Nierentumoren von der Tumorgroße festgestellt. Zum Beispiel bei einer Tumorgroße < 3 cm betrug der Anteil der benignen Nierenläsionen 25%, < 2 cm 30% und 44% bei einer Tumorgroße < 1 cm. 70% der benignen Läsionen waren Onkozytome, 18% Angiomyolipome, 4% papilläre Adenome und 1% metanephrogene Adenome (Frank et al. 2003).

Zusammenfassend kann man sagen, dass die Inzidenz der benignen Nierentumoren in unserer Untersuchung sowie in anderen, vergleichbaren Studien häufiger war, als es Sektionsstatistiken ausweisen. Zum Beispiel beobachteten wir bis zu 20% Onkozytome in der präoperativen Gruppe, obwohl Literaturdaten über Sektionsstatistik von einer Häufigkeit bis 5% sprechen (Störkel 1999). Es handelte sich in unserer Arbeit in der präoperativen Gruppe um Tumore mit einer Größe bis 4 cm, die nach sonographischen Kriterien homogen strukturiert waren. Dieses Einschlußkriterium basiert auf seit Jahrzehnten bekannten Beobachtungen der makroskopischen Pathologie: sonographisch homogen erscheinende Tumore sind mit höherer Wahrscheinlichkeit Onkozytome, da diese in Unterschied zu NZK

makroskopisch ein homogenes Bild zeigen. So selektiert liegt die Häufigkeit der Onkozytome offensichtlich höher.

20 (80%) von 25 Patienten, bei denen eine Nierentumorbiopsie präoperativ durchgeführt wurde, wurden operiert. In drei Fällen (12%) konnte eine Operation vermieden werden. Lechevallier et al. berichteten, dass in 46% der biopsierten Patienten eine Operation vermieden werden konnte. Dabei lagen in 13% benigne Veränderungen und in 33% der Fälle ein nicht operables Tumorleiden vor (Lechevallier et al. 2000).

In 90% der Fälle (18 von 20 Operationen) beobachteten wir eine vollständige Diagnoseübereinstimmung mit der Biopsie. In einem Fall Nr. 9505 wurde im Biopsiematerial ein indifferenter Tumor mit Verdacht auf ein onkozytäres Adenom diagnostiziert. Aufgrund dieser Konstellation wurde sofort die Tumornephrektomie durchgeführt. Im Tumornephrektomiepräparat wurde ein chromophobes Nierenzellkarzinom festgestellt. Die Abgrenzung des Onkozytoms vom Nierenzellkarzinom allein aufgrund morphologischen Kriterien kann Schwierigkeiten bereiten, insbesondere wenn Nierenkarzinome eosinophile granulareiche Zellen enthalten, die als typisches Merkmal der Nierenonkozytome bezeichnet werden (Staehler und Pomer 1997). Es ist auch bekannt, dass die Differentialdiagnose zwischen renalem Onkozytom und chromophobem Nierenzellkarzinom, ausschließlich auf histopathologischen Kriterien basierend, in manchen Fällen erschwert sein kann (Nagy et al. 2004).

Die meisten Onkozytome zeigen ein charakteristisches makroskopisches und mikroskopisches Bild, jedoch sind zahlreiche Tumoren mit ungewöhnlichen, teils klarzellulärem teils chromophob-zellulärem zytologischen Charakter beobachtet worden. Eine sichere Abgrenzung von eosinophilzellulären Varianten des chromophoben Nierenzellkarzinoms und eosinophilen "klarzellulären" Karzinomen ist häufig nicht möglich (Kovacs 1999). Zytogenetisch besteht eine Verwandtschaft zumindest zwischen einem Teil der renalen Onkozytome und den chromophoben Nierenzellkarzinomen, was an eine Adenom-Karzinom-Sequenz bedingt durch Zunahme der genetischen Alterationen denken lässt. Daher werden die Onkozytome als eventuelle benigne Vorläufer der chromophoben NZK betrachtet (Störkel 1999).

In einem anderen Fall Nr. 4805 ergab die histopathologische Untersuchung von der Biopsie einen unauffälligen Befund. Bei der Biopsieentnahme in lokaler Anästhesie konnte der Patient die Anweisungen des Operateurs nicht folgen (kurzzeitig nicht atmen). Bei bestehendem Verdacht auf einen Malignom beim o.g. Patient erfolgte eine operative Freilegung mit anschließender Tumornephrektomie. Histopathologisch war ein klarzelliges

Nierenzellkarzinom zu verzeichnen. Es handelte sich um einen sog. non-compliance Patienten, daher sollte die Compliance der Patienten bei der Biopsie in lokaler Anästhesie immer beachtet werden.

Im Fall Nr. 10306 konnte anhand der Biopsie kein Tumor gefunden werden. Nach der partiellen Tumornephrektomie konnte im definitiven histopathologischen Befund ebenfalls kein Tumor nachgewiesen werden.

In der präoperativen Tumorgruppe lag die Genauigkeit der Biopsie bezüglich der Dignität bei 90%. Die falsch negative Rate lag bei 10%. Die Spezifität in unserer Studie betrug 100%, die Suffizienzrate 100%.

Wood et al. haben bei 79 Nierentumorbiopsien eine falsch negative Rate von 6% (fünf Fälle) beobachtet (Wood et al. 1999).

Neuzillet et al. berichteten, dass die Genauigkeit der präoperativen Biopsie (n=88) hinsichtlich der Dignität bei 92% lag. Die falsch negative Rate lag bei 8% (Neuzillet et al. 2004). Barriol et al. haben von 85 CT-gestützt durchgeführten Biopsien eine Sensitivität bis 90% beobachtet (Barriol et al. 2000). Herts et al. beschreiben eine Genauigkeit der Nierentumorbiopsie von 90% (Herts et al. 1995). Eshed et al. ermittelten bei 23 CT-gesteuerten Biopsien eine Sensitivitätsrate von 93% und eine Spezifitätsrate von 100% (Eshed et al. 2004). Das korreliert mit unseren Ergebnissen. In der Tabelle 22 sind die Literaturdaten und eigene Daten über Suffizienzrate, Spezifität und Sensitivität präoperativer Nierentumorbiopsien zusammengefasst dargestellt.

Bei der Analyse dieser Literaturdaten und unserer eigenen Ergebnisse lässt sich ableiten, dass die Nierentumorbiopsie insgesamt eine hochsensitive und spezifische diagnostische Methode darstellt mit einer Material Suffizienzrate von 76 bis 100%; einer Sensitivitätsrate von 87 bis 100% und einer Spezifitätsrate bis 100%.

Die Nierentumorbiopsie kann computertomographisch oder ultraschallgestützt erfolgen. In einer Untersuchung von Barriol et al. sind 74 Patienten mit abklärungsbedürftigen Nierentumoren einbezogen worden. Die Biopsie erfolgte mit einer 18-Gauge Nadel, aber CT-gestützt. Das Biopsiematerial war in 17% der Fälle nicht repräsentativ (Barriol et al. 2000). Lechevallier beobachtete bei CT-gestützten Biopsien eine Insuffizienzrate bis 21% (Lechevallier et al. 2000). In o.g. Fällen kann man vermuten, dass die Suffizienzrate auch von der Art der bildgebenden Unterstützung abhängt. Wir empfehlen daher die ultraschallgestützte Nierentumorbiopsie: Sie ist billiger, der Eingriff ist kürzer und die Insuffizienzrate offensichtlich niedriger. Die Verwendung von verschiedenen Nadelgrößen bei der Nierentumorbiopsie erscheint ebenfalls wichtig.

Tab. 22: Literaturübersicht über Suffizienzrate, Spezifität und Sensitivität von Nierentumorbiopsien

Quelle, Jahr	n	Suffizienzrate	Sensitivität	Spezifität
Neuzillet et al. 2004	88	96,6%	92%	-
Eshed et al. 2004	23	100%	93%	100%
Caoili et al. 2002	26	100%	100%	100%
Rubicki et al. 2002	115	100%	93%	100%
Hara et al. 2001	33	100%	87%	-
Barriol et al. 2000	85	83%	90%	-
Richter et al. 2000	517	76%	98%	-
Lechevallier et al. 2000	73	79%	89%	-
Wood et al. 1999	79	94%	93%	-
Vasudevan et al. 2006	70	78%	100%	100%
eigene Ergebnisse	25	100%	90%	100%

Johnson et al. berichteten über eine diagnostische Effizienz von 82% bei der ultraschallgestützten Nierentumorbiopsie. Die Stanzbiopsie mit einer 18-Gauge Nadel erbrachte statistisch signifikant mehr diagnostische Sicherheit, als die Biopsie mit einer 20-Gauge Nadel (Johnson et al. 2001). Die Komplikationsrate bei der Verwendung von Nadeln in der Größe von 17 bis 22 Gauge war niedriger als in der Größe 14 und 15 Gauge (Meola et al. 1994, Cozens et al. 1992, Tung et al. 1992). Anhand der Literaturdaten und eigenen Ergebnisse empfehlen wir die Durchführung der Biopsie mit einer 18-Gauge Nadel.

Es existieren prinzipiell verschiedene Modifikationen einer Stanzbiopsie: z.B. mit Hilfe einer Vim-Silverman Nadel, Tru-Cut-Nadel oder „Biopty-gun“. In unserer Studie wurde ein Biopsiegerät („Biopty-gun“) benutzt. In der Literatur sind die Vorteile und mögliche Nachteile der verschiedenen Modifikationen umfangreich beschrieben worden. Ohmori et al. berichteten von 57 renalen Biopsien, die mit Hilfe einer Biopty-gun, 18-Gauge Nadel entnommen wurden. Die Biopatlänge betrug dabei von 5 bis 17 mm, aber das Material war dünner als das entnommene mit Hilfe einer Vim-Silverman- oder Tru-Cut-Nadel. Die Autoren beschreiben, dass die Suffizienzrate bei 94,7% lag. Zur Verbesserung der Suffizienzrate wird die Entnahme von 2 Biopsien vorgeschlagen (Ohmori et al. 1990).

Mahoney et al. haben die Biopsieresultate, die mit Hilfe von Biopty-gun- und Tru-Cut-Nadeln entnommen wurden, verglichen. Die Komplikationsrate der Biopty-gun-gestützter Biopsie lag bei ca. 2%, bei der Tru-Cut-Nadel bei ca. 10%. Das Biopsiematerial der beiden Methoden war

in 98% der Fälle repräsentativ (Mahoney et al. 1993). Cozens et al. haben die konventionelle Nierenbiopsie mit einer 15-Gauge Nadel mit der Biopty-gun-Biopsie verglichen. Die Suffizienzrate von Biopty-gun gestützter Biopsie betrug 93%, die der konventionellen Technik 79%. In dieser Studie sind keine statistisch signifikanten Unterschiede in dem Komplikationsspektrum und der Komplikationsrate gefunden worden (Cozens et al. 1992). Ahmed et al. berichteten von einer Suffizienzrate von 97,5% bei der Nierenbiopsie, die mit Hilfe der Biopty-gun entnommen wurde. Die Autoren beobachteten keine Majorkomplikationen (Ahmed et al. 2003). Tung et al. haben von 104 Nierenbiopsien (Biopty-gun, 14-Gauge Nadel) berichtet. In 103 von 104 Fällen (99%) war das Material suffizient. Die Komplikationsrate lag bei 2,9% inklusive einer arterio-venösen Fistel und drei transfusionspflichtiger perirenaler Hämatome (Tung et al. 1992). Ori et al. haben bei ultraschallgestützten Biopsien von 85 Patienten eine Suffizienzrate von 98% erreicht. In der Studie wurden lediglich Biopty-gun, 18-Gauge Nadeln verwendet (Ori et al. 2002).

Anhand der Literaturanalyse lässt sich zusammenfassen, dass die Nierenbiopsie mit Hilfe einer „Biopty-gun“ als komplikationsarme und sichere diagnostische Methode beschrieben werden kann. Zur Verbesserung der Suffizienzrate kann die Entnahme von 2 Biopaten dienen.

Außer der Stanzbiopsie zur Dignitätsklärung existiert auch die sog. Saugbiopsie bzw. Aspirationsbiopsie. Niceforo et Coughlin berichteten von 57 Nierentumor-Aspirationsbiopsien bei 55 Patienten im Zeitraum von 1987 bis 1991. Die Autoren beobachteten eine Sensitivität von 80%, und eine Spezifität von 100% (Niceforo et Coughlin 1993). Johnson et al. berichteten, dass das Aspirationsbiopsiematerial lediglich in 67% für die histopathologische Diagnose suffizient war. Dagegen lag die Suffizienzrate der Stanzbiopsie bei 82%. (Johnson et al. 2001). Brierly et al. berichteten von 49 Nierentumoraspirationsbiopsien bei 49 Patienten. Die Tumore sind in zwei Gruppen unterteilt worden: **1 Gruppe:** Tumor > 5 cm; **2 Gruppe:** Tumor < 5 cm. Die Insuffizienzrate in dieser Studie lag bei 16%. Die Sensitivität betrug 89% für Tumore größer als fünf cm, für Tumore kleiner als fünf cm-64% und 50% für komplizierte Zysten (Brierly et al. 2000). Zusammengefasst liegt die Sensitivität der Aspirationsbiopsie hinsichtlich der Dignität anhand der Literaturdaten bei 50 bis 85% (Brierly et al. 2000, Helm et al. 1983, Murphy et al. 1985, Goethuys et al. 1996). Die Autoren berichteten, dass die Aspirationsbiopsie nicht ausreichend zytologisches Material gewinnt und die Insuffizienzrate 5 bis 16% betrug. Die falsch negative Rate der Aspirationsbiopsie lag bei 8-36% (Brierly et al. 2000, Goethuys et al. 1996, Wehle und Grabstald 1986). Anhand dieser Daten lässt sich ableiten, dass die

Aspirationsbiopsie eine geringere Sensitivitätsrate und größere Insuffizienzrate im Vergleich mit Stanzbiopsie hat. Es existieren zusätzlich gewisse Schwierigkeiten bei Diagnosestellung bzw. Differenzierung im Aspirationsmaterial von Onkozytomen und Angiomyolipomen. Zum Beispiel können die Onkozyten im Aspirationsmaterial erkannt werden, aber die Differenzierung zwischen Onkozytom und Adenokarzinom ist erheblich erschwert (Engel und Horn 1991, Lense et al. 1991). Angiomyolipome können auch falsch interpretiert werden, da benigne Zellen aspirationsbedingt Atypien und Pleomorphismen aufweisen können. Das kann zu falsche Malignitätsbewertung führen. (Tallada et al. 1994). Außerdem muss beachtet werden, dass alle publizierten Fälle einer Tumorzellaussat nach Aspirationsbiopsien entstanden sind. Daher empfehlen wir bei der Nierentumorbiopsie die Durchführung der Stanzbiopsie z.B. mit Hilfe einer „Biopty-gun“.

Anhand der angegebenen Literatur und der eigenen Daten lässt sich zusammenfassend sagen, dass die Stanzbiopsie zur Dignitätsklärung bei unklaren renalen Raumforderungen insgesamt eine hochsensitive, spezifische und komplikationsarme diagnostische Methode ist.

6.4 Diskussion der M-FISH Ergebnisse in der postoperativen Gruppe

Bei 20 durchgeführten genetischen Untersuchungen in der pT1a Gruppe fanden sich vier klarzellige NZK (zwei Fälle), sechs papilläre NZK (drei Fälle), sechs Onkozytome (drei Fälle). In vier Biopaten (zwei Fälle) konnte kein Tumorgewebe nachgewiesen werden (histopathologisch identisch, siehe Tabelle 17). Die genetische Untersuchung erbrachte in dieser Gruppe (n=20) 10% mehr diagnostische Sicherheit im Vergleich zur Histologie. Die Sensitivität der M-FISH Untersuchung in o.g. Gruppe lag bei 100%. Die Spezifität in der pT1a-Gruppe betrug 100% (ein Fall).

Die M-FISH Analyse wurde in der postoperativen pT1b Gruppe bei 17 (85%) Biopaten durchgeführt. Unter 17 durchgeführten genetischen Untersuchungen befanden sich 12 klarzellige NZK (sieben Fälle, 70%) und fünf papilläre NZK (drei Fälle, 30%) (siehe Tabelle 19).

Junker et al. berichteten, dass eine genetische Charakterisierung im Nierentumormaterial in 93% der Fälle möglich war. Es wurden insgesamt 174 Tumoren analysiert (Junker et al. 2003). Mustafa et al. haben 40 Tumorbiopsien mit Hilfe der CGH analysiert. In den zentral entnommenen Biopsien konnte mit einer Häufigkeit von 65% der Biopsien (13/20 Biopsien) ein maligner Befund erkannt werden. Bei 35% der Biopsien zeigten sich keine Chromosomenaberrationen. Im Gegensatz dazu wiesen 75% (15/20 Biopsien) der peripher

entnommenen Biopate genetisch veränderte Tumorzellen auf. In 25% der Fälle waren keine chromosomalen Veränderungen festzustellen (Al Mustafa 2005).

Bassett et al. haben postoperativ 79 Nierentumorbiopsien vorgenommen und das Material wurde mittels M-FISH untersucht. Anschließend wurden die genetischen Ergebnisse mit histopathologischen verglichen. Dabei musste insgesamt in 20% der Fälle der histopathologische Befund revidiert werden. Zum Beispiel von neun histopathologisch diagnostizierten Onkozytomen hatten sechs (67%) genetische Veränderungen, die für maligne Tumore typisch sind. Die Autoren beschreiben den Sensitivitätsvorteil der M-FISH Untersuchung im Vergleich zur histopathologischen Untersuchung von 20% (Bassett et al. 2006). Diese Literaturdaten sprechen für ein hohes diagnostisches Potenzial der genetischen Methoden insgesamt.

Alle Proben der klarzelligen Nierenzellkarzinome in der postoperativen Gruppe wiesen eine Deletion der beiden Regionen 3p auf. Ein Verlust der Region 3p gilt als Voraussetzung für die Entstehung klarzelliger Nierenzellkarzinome (van den Berg et al. 1993, Chudek et al. 1997, Kälble und Kovacs 1994, Kovacs 1999). Dies wird durch unsere Ergebnisse bestätigt. Kovacs beschrieb die Deletionen der Chromosomenabschnitte 6q, 8p, 9p und 14q bei den klarzelligen Nierentumoren als bedeutsam für die Tumorprogression (Kovacs 1999). Bei den klarzelligen Nierentumoren fanden sich in unserer Studie neben dem Verlust auf 3p Chromosom weiterhin Verluste von Chromosom 6 in 54%.

Ähnliche Ergebnisse wurden durch Siebert et al. erzielt. Durch Untersuchungen klarzelliger Nierenzellkarzinome mittels M-FISH zeigten sich in 79% der Fälle Monosomien und/oder Deletionen des Chromosomenabschnittes 3p (Siebert et al. 1998). Wesentlich geringere Anteile von 62% und 53% beobachteten Neumann et al. und Chino et al. (Neumann et al. 1998, Chino et al. 1999). Bei Kovacs lag der Anteil der Veränderungen bei 98% (Kovacs 1999).

Im Fall Nr. 2604 wurde in der Biopsie lediglich fibrotisches Material gefunden. Die genetische Untersuchung bestätigte den o.g. Befund. Aufgrund des bestehenden Verdachtes auf Malignom erfolgte die partielle Tumornephrektomie. Histopathologisch war ein konventionelles NZK zu verzeichnen. In dem Fall handelte es sich um eine primär fehlerhafte Biopsieentnahme in einem fibrotischen Areal. Somit war ein Tumornachweis mittels M-FISH nicht möglich.

Als charakteristische genetische Veränderungen papillärer Nierentumore gelten Allelduplikationen spezifischer Chromosomen (Kovacs 1999). Durch verschiedene Arbeitsgruppen wurden Zugewinne der Chromosomen 7 und 17 beschrieben (Rhenshaw et al.

1997, Glukhova et al. 1998, Hughson et al. 1999), was durch unsere Ergebnisse bestätigt werden konnte. Die Trisomien von Chromosomen 7 und 17 waren in unserer Studie bei allen Fällen der papillären Nierenzellkarzinome nachweisbar. Kovacs wies molekulargenetisch in 92% der sporadischen und 100% der hereditären papillären Nierenzellkarzinome eine Duplikation von 17p21.32 nach (Kovacs 1999). Im Gegensatz zu den von Kovacs beschriebenen 3q-Zugewinn (Kovacs 1999), fanden wir in 33% (ein Fall) der papillären NZK einen Zugewinn von Region 3p. In der Literatur werden häufig Zugewinne des gesamten Chromosoms 3 beschrieben, so dass die von uns nachgewiesenen Zugewinne auf 3p nicht im Widerspruch zu den Ergebnissen von Kovacs stehen.

Insgesamt beobachteten wir in o.g. Gruppe eine komplette Übereinstimmung der genetischen Resultate mit den histopathologischen Ergebnissen. Die Sensitivität betrug in dieser Gruppe 100%. Daraus lässt sich ableiten, dass die M-FISH Untersuchung eine sinnvolle Komplettierung der konventionellen histopathologischen Untersuchung darstellt.

6.5 Diskussion der M-FISH Ergebnisse in der präoperativen Gruppe

Unter 22 durchgeführten genetischen Untersuchungen fanden sich 15 klarzellige NZK (68,2%), ein papilläres NZK (4,5%), zwei Onkozytome (9%), zwei unklassifizierbare Tumore (9%) und in einem Fall keine Malignität (4,5%). Im Fall Nr. 1305 (4,5%) war die genetische Klassifikation nicht möglich (siehe Tabelle 21).

Von 22 Nierenläsionen waren vier (18%) benigne.

Als charakteristische genetische Veränderungen klarzelliger Nierentumore gelten Verluste von Region 3p. Recevuer et al. beschrieb bei allen klarzelligen Nierenzellkarzinomen, die mittels M-FISH untersucht worden sind, einen Verlust von 3p Region (Recevuer et al. 2005). Barocas et al. haben 42 Nierentumorbioptaten mittels M-FISH untersucht und mit der Histopathologie verglichen. Ein Verlust von Region 3p war in dieser Studie lediglich in 53,3% der klarzelligen Nierenzellkarzinome festzustellen (Barocas et al. 2006). In der Arbeit von Sanjmyatav et al. wurden 25 Nierentumore mittels M-FISH und CGH untersucht und anschließend mit der histopathologischen Ergebnissen verglichen. In 22 (88%) Fällen konnte mit Hilfe M-FISH eine Klassifikation erfolgen, bei drei verbliebenen Tumoren waren auch in der CGH keine genetischen Alterationen nachweisbar. Die Autoren wiesen bei allen klarzelligen Nierentumoren eine Deletion von 3p auf (Sanjmyatav et al. 2005). Dies wird durch unsere Ergebnisse bestätigt. Alle Proben der klarzelligen Nierenzellkarzinome zeigten in unserer Studie eine Deletion der Region 3p. Bei klarzelligen Nierentumoren beobachteten wir weiterhin Deletionen von Chromosom 6 (20%), 9 (6,7%), 7 (6,7%) und 17 (6,7%). Das

wird auch von anderen Autoren beschrieben: Sanjmyatav et al. wiesen Verluste von Chromosom 6 bei klarzelligen NZK in 20%, einen Verlust von Chromosom 9 in 10% und einen Verlust von Chromosom 17 in 10% der Fälle nach (Sanjmyatav et al. 2005). Recevuer et al. beobachteten bei klarzelligen NZK in 9% der Fälle eine Deletion von Chromosom 6 und mit gleicher Häufigkeit einen Verlust von Chromosom 9 (Recevuer et al. 2005).

Wie bereits beschrieben, sind papilläre Nierentumore sind im Gegensatz zu klarzelligen NZK nicht durch Allelverlust, sondern durch Allelduplikationen der Chromosomen 7 und 17 charakterisiert (Rhenshaw et al. 1997, Glukhova et al. 1998, Hughson et al. 1999, Kovacs 1999), was wiederum durch unsere Ergebnisse bestätigt werden konnte. In unserer Studie ließen sich die Zugewinne der Chromosomen 7 und 17 im Fall der papillären NZK Nr. 2104 nachweisen. Recevuer et al. beschrieb bei allen papillären Nierenzellkarzinomen, die mittels M-FISH untersucht worden sind, eine Allelduplikation von Chromosomen 7 und 17 in 70 bis 97% der Nuklei (Recevuer et al. 2005). Barocas et al. konnten in 85,7% der papillären Nierentumoren Zugewinne der Chromosomen 7 und 17 nachweisen (Barocas et al. 2006). Sanjmyatav et al. wiesen der papillären Nierentumoren einen Zugewinn von Chromosom 7 in 88% der Fälle und in 75% der Fälle einen Zugewinn von Chromosom 17 auf. Außerdem wurden Duplikationen von Chromosom 3 in 50% der Fälle beschrieben, was in unseren Ergebnisse nicht gefunden werden konnte (Sanjmyatav et al. 2005). Zu berücksichtigen ist hier, dass Zugewinne weiterer Chromosomen (3, 12, 20) erst mit Fortschreiten der Tumore auftreten.

Als charakteristische genetische Veränderungen der Onkozytome gilt die Deletion von Chromosom 1 (Rhenshaw et al. 1997, Glukhova et al. 1998). Zytogenetische und auch DNA-Analysen haben drei genetische Gruppen der Nierenonkozytome identifiziert, die keine morphologischen oder biologischen Subgruppen darstellen. Ein Teil der Nierenonkozytome zeigt eine Monosomie des Chromosoms 1 und /oder Chromosom 14q sowie den Verlust des Y Chromosoms (Kovacs 1999). Eine zweite Gruppe zeigt eine balancierte Translokation zwischen Chromosom 11q13 und anderen Chromosomen (Kovacs 1999). Eine dritte Gruppe weist keine sichtbaren genetischen Alterationen auf oder zeigt unspezifische Veränderungen. In 33% der Onkozytomsfälle konnte die Monosomie des Chromosoms 1 durch Sanjmyatav et al. festgestellt werden. Die verbliebene histopathologisch diagnostizierten Nierenonkozytome wiesen keine genetischen Alterationen auf (Sanjmyatav et al. 2005). In der Arbeit von Barocas et al. wurde in 60% der Onkozytomsfälle einen Verlust des Chromosoms 1 diagnostiziert. Die andere Onkozytome zeigten keine genetischen Veränderungen (Barocas et al. 2006). In unserer Untersuchung wurde eine Monosomie des Chromosoms 1 in allen Fällen

der Onkozytome (Fall Nr. 3506 und 9305) beobachtet. Für die Differentialdiagnose ist jedoch entscheidend, dass keine der bisher analysierten Nierenonkozytome die Kombinationen von spezifischen genetischen Alterationen zeigten, die für klarzellige, papilläre oder chromophobe NZK charakteristisch sind.

In 19 Fällen beobachteten wir eine völlige Übereinstimmung der genetischen Ergebnisse mit den histopathologischen Biopsieergebnissen und den Tumornephrektomiepräparaten.

Im Fall Nr. 9505 wurde in der Biopsie histopathologisch ein onkozytär differenzierter Tumor diagnostiziert. Genetisch konnte das aber nicht bestätigt werden, es waren keine Chromosomenalterationen nachweisbar. Aufgrund dieser Diskrepanz erfolgte eine operative Therapie. Im endgültigen Befund wurde ein chromophobes Nierenzellkarzinom festgestellt. Die genetische Analyse des Tumors mittels vergleichender genomischer Hybridisierung zeigte ebenfalls keinerlei Veränderungen. Somit liegt hier eher ein untypischer chromophober Tumor vor. Die Differentialdiagnose zwischen renalen Onkozytom und chromophoben Nierenzellkarzinom ausschließlich auf Zellencharakteristika basierend kann in manchen Fällen erschwert sein (Nagy et al. 2004). Das Zytoplasma der chromophoben Zellen wird durch die Anzahl der typischen intrazytoplasmatischen Vesikel bestimmt (Kovacs 1999). Die positive Färbung mit Hale's Farbe ist nicht limitierend für chromophobe NZK und zytoplasmatische Vesikel können auch bei Onkozytomen vorkommen (Ticko et al. 1998, Skinnider et al. 1999, Koller et al. 2000). Die Kombination von spezifischen Chromosomenalterationen von Monosomien der Chromosomen 1, 2, 6, 10, 13, 17 und 21 konnten in 75% bis 100% chromophoben NZK nachgewiesen werden (Kovacs 1999, van den Berg et al. 1993, Junker et al. 2003). Sanjmyatav et al. haben sieben chromophobe NZK mittels M-FISH untersucht, dabei sind in 14% der Fälle keine genetischen Alterationen gefunden worden (Sanjmyatav et al. 2005). Recevuer et al. konnten bei zwei chromophoben NZK ebenfalls keine genetischen Alterationen feststellen (Recevuer et al. 2005). Barocas et al. beobachteten bei 66% der chromophoben Nierentumoren Verluste von mindestens zwei typischen Chromosomen (Barocas et al. 2006). Die Arbeitsgruppe von Iqbal hat insgesamt sechs chromophobe NZK mittels M-FISH untersucht. Dabei sind zentromerspezifischen Sonden für die Chromosomen 1, 2, 6 und 10 verwendet worden. Alle sechs Tumore zeigten eine Monosomie an den o.g. Chromosomen. Anschließend sind noch drei Tumore mit zentromerspezifischen Sonden für die Chromosomen 13, 17 und 21 untersucht worden. Die Monosomien an den o.g. Chromosomen waren ebenfalls nachweisbar (Iqbal et al. 2000). Durch weitere genetische Untersuchungen unter Verwendung spezifischer genetischer

Analysemethoden müssen in der Zukunft zusätzliche genetische Veränderungen in den bisher unauffälligen Tumoren gesucht werden.

Im Fall Nr. 4805 war in der Biopsie histopathologisch nur chronisch entzündlich verändertes Nierengewebe nachweisbar. Die M-FISH zeigte aber typische genetische Alterationen eines klarzelligen Nierenzellkarzinoms, nämlich den Verlust des kurzen Armes des Chromosoms 3. Es erfolgte die operative Nierenfreilegung mit anschließender Tumornephrektomie, dabei wurde im Präparat ein klarzelliges NZK diagnostiziert. Das heißt, dass die M-FISH Analyse in diesem Fall mehr diagnostische Sicherheit erbrachte.

Im Fall Nr. 6405 wurde histopathologisch im Biopsiematerial ein Leiomyom diagnostiziert. Die genetische Untersuchung zeigte einen Verlust am Chromosom 7. In der Literatur wurden keine typischen genetischen Merkmale für ein Leiomyom beschrieben, somit ist die Diagnosestellung mittels M-FISH nicht möglich. Die operative Therapie war in diesem Fall nicht erforderlich. Im Nachbeobachtungszeitraum von 12 Monaten wurden keine Veränderungen beobachtet.

Im Fall Nr. 7905 war histopathologisch im Biopsiematerial ein Adenokarzinom nachweisbar, im endgültigen Befund nach Tumornephrektomie ein Ductus-Bellini-Karzinom. Die genetische Untersuchung zeigte Verluste der Chromosomen 7 und 17. Es sind keine Untersuchungen zu Sammelrohrkarzinomen mittels M-FISH publiziert worden. Die Ergebnisse von wenigen, anderen genetischen Analysen des Ductus-Bellini-Karzinoms sind sehr widersprüchlich. Letzteres könnte auch die Unsicherheit in der histologischen Diagnose reflektieren. Hieraus leitet sich die Notwendigkeit ab, eine detaillierte genetische Analyse von zahlreichen, histologisch als „Sammelrohrkarzinome“ gesicherten Fälle durchzuführen, um eventuell eine genetische Entität abzugrenzen (Kovacs 1999).

Anhand unserer Daten lässt sich schlussfolgern, dass die Sensitivität der M-FISH Untersuchung in o.g. Gruppe bei 95,2% lag. Die genetische Untersuchung erbrachte in dieser Gruppe 5,2% mehr diagnostische Sicherheit im Vergleich zur konventionellen histopathologischen Untersuchung am Biopsiematerial. Die Studie von Barocas et al. konnte zeigen, dass die M-FISH Methode war informativer im Vergleich mit der Histopathologie (93,8% vs. 81,3%) (Barocas et al. 2006). Anhand der Untersuchungen von Recevuer et al., Barocas et al., Bassett et al. und Sanjmyatav et al. lässt sich feststellen, dass die M-FISH Untersuchung eine hochsensitive und spezifische Methode ist, was in unserer Untersuchung bestätigt werden konnte (Recevuer et al. 2005, Sanjmyatav et al. 2005, Barocas et al. 2006, Bassett et al. 2006). Auf der Basis unserer Ergebnisse erscheint die genetische Analyse mittels M-FISH als sinnvolle und effektive Methode zur Diagnostik und Klassifizierung von NZK in

Ergänzung zur klassischen histopathologischen Analyse. Das Multi-color-FISH-Testsystem ermöglicht eine schnelle und sichere genetische Identifizierung und Differenzierung der häufigsten Typen des Nierenzellkarzinoms. Damit kann in zweifelhaften Fällen die histopathologische Diagnose gesichert werden. Zum anderen wird eine schnelle und sichere Diagnostik an Biopsien von Primärtumoren und Metastasen möglich, da die Analyse einer sehr geringeren Zellanzahl (50-100 Zellen) ausreichend ist.

Wie für andere Tumore gilt auch für Nierentumoren, dass derzeit zytogenetische Techniken hilfreich sind, um die histopathologisch gestellte Diagnose zu sichern bzw. zu bestätigen, sodass die diagnostische Präzision gesteigert werden kann. Eine Klassifikation allein auf Grundlage genetischer Veränderungen ist heute noch nicht möglich. Weitergehende Studien werden nötig sein, um neue Gene zu charakterisieren, die bei der Entstehung und Progression von Nierenkarzinomen eine Rolle spielen (Mertz et al. 2006).

6.6 Diskussion der Komplikationen nach Nierentumorbiopsie

Die häufigste Komplikation nach Nierentumorbiopsie war ein passagerer postoperativer Flankenschmerz, der mit Hilfe von Analgetika beherrschbar war. Das beobachteten wir in 8% der Fälle. Die Entwicklung von klinisch irrelevanten subkapsulären Hämatomen war in 4% der Biopsien zu beobachten.

In einem Fall Nr. 3506 (4%) sahen wir ein perirenales Hämatom in der Ausdehnung von ca. 5x3 cm. In dem Fall war die Transfusion von insgesamt zwei Transfusionseinheiten notwendig. Die Rate transfusionspflichtiger renaler Hämorrhagien betrug 4%. Risiken bzw. Nebenwirkungen der Biopsie im Sinne von Nachbarorganenverletzungen bzw. Stichkanalmetastasen waren während einer Nachbeobachtungszeit von 12 bis 24 Monaten nicht zu beobachten. Dies korreliert mit den Literaturdaten.

Das Risiko bzw. das Nebenwirkungsspektrum einer Nierentumorbiopsie ist insgesamt als gering einzuschätzen: 5 jüngere Publikationen (Smith 1991, Caoili et al. 2002, Mignon et al. 2001, Johnson et al. 2001, Lechevallier et al. 2000) mit insgesamt 665 Nierentumorbiopsien an 288 Patienten beschreiben keine wesentlichen Komplikationen. Mit einer Inzidenz von 9-11% werden hauptsächlich passagere postoperative Flankenschmerzen und die Entwicklung von subkapsulären Hämatomen beobachtet, die jedoch immer konservativ beherrscht werden konnten. Ein Patient entwickelte drei Monate nach Biopsie ein Pseudoaneurysma. Es wurde nicht über biopsiebedingte Tumorzellausbreitungen oder andere lebensgefährliche Nebenwirkungen berichtet die im Zusammenhang mit der Biopsie stehen.

Preda et al. berichteten von Komplikationen bei 515 Patienten nach Nierenstanzbiopsie (mit „Biopty-gun“, 14-Gauge Nadel):

Alle Komplikationen sind in 2 Gruppen unterteilt worden:

- Klinisch relevante Komplikationen: Komplikationen, die mit postbiopsischen Interventionen verbunden sind, z.B. Bluttransfusionen, Urinomdrainage, Embolisationen der arterio-venösen Fisteln, Nephrektomie usw.
- Klinisch irrelevante Komplikationen: klinisch irrelevantes perirenales Hämatom oder Makrohämaturie.

Die gesamte Komplikationsrate betrug 12,2% (165 Biopsien). Die Komplikationsrate (klinisch relevant) lag bei 2,7%: vier Bluttransfusionen, zwei arterio-venöse Fisteln, ein Urinom, ein Patiententod aufgrund eines hypovolämischen Schocks (Preda et al. 2003).

Vasudevan et al. haben in Zeitraum von 2000 bis 2005 100 ultraschall- bzw. CT-gestützten Nierentumorbiopsien durchgeführt. Dabei wurden ein „Biopty-gun“ und 16-Gauge Nadeln verwendet. Lediglich in einem Fall beobachtete man eine klinisch relevante Blutung, so dass eine Tumornephrektomie und Transfusion von zwei Erythrozytenkonzentraten erforderlich war. Insgesamt lag die Inzidenz der Hämorrhagien in dieser Studie bei 1%. Es sind keine weiteren Komplikationen aufgetreten (Vasudevan et al. 2006).

Hergesell et al. haben von 1993 bis 1997 1090 ultraschallgestützte Nierenbiopsien durchgeführt. Dabei wurden ein „Biopty-gun“ und 18-Gauge Nadeln verwendet. Die Häufigkeit von klinisch irrelevanten Hämatomen betrug 2,2% (25/1090), Makrohämaturien 0,8% (9/1090). Die Suffizienzrate lag bei 98,8% (Hergesell et al. 1998).

Wir beobachteten keine Stichkanalmetastasen in unserer Studie. Bezüglich dieser Problematik fanden sich in der Literatur im Publikationszeitraum von 17 Jahren weltweit nur Einzelfälle der Tumorzellaussaat nach Nierentumorbiopsie. Gibbons et al. berichtete von einem Patient mit Zystenläsion, welches primär zweimal durch Feinnadelaspiration biopsiert wurde. Histologisch war die Biopsie insuffizient (nur Blutbeimengung). Fünf Jahre später wurde eine Metastase in ehemaligen Biopsiekanal nachgewiesen (Gibbons et al. 1977).

Auvert et al. fanden bei einer Patientin sieben Jahre nach Aspirationsbiopsie eine Punktionsmetastase (Auvert et al. 1982). In anderen Berichten sind ebenfalls nur Einzelfälle einer Tumorzellaussaat nach Nierentumorbiopsie beschrieben worden, allerdings ausschließlich nach Aspirationsbiopsie (siehe Tabelle 23). Weltweit sind keine Fälle von Stichkanalmetastasen nach Stanzbiopsie des Nierentumors beschrieben worden.

Einige Autoren haben gezielt die Problematik der möglichen Tumorzellaussaat nach der Nierentumorbiopsie (Biopty-gun gestützt) untersucht. Neuzillet et al. haben in 56

Tumornephrektomiepräparaten, die im Vorfeld bioptiert worden sind, gezielt nach der Tumorzellen in der Nierenfettkapsel und peritumoral in Nierengewebe untersucht. Dabei sind keine Tumorzellen gefunden worden (Neuzillet et al. 2004). Wood et al. haben bei 79 bioptierten Patienten im Nachbeobachtungszeitraum von 30,8 Monaten keine Tumorzellaussat beobachtet (Wood et al. 1999). Vasudevan et al. berichteten, dass keine Metastasen nach der Nierentumorbiopsie (n=100) im Nachbeobachtungszeitraum von 32,6 Monaten aufgetreten sind (Vasudevan et al. 2006). Insgesamt sind in der Weltliteratur keine Stichkanalmetastasen nach der Stanzbiopsie mit Hilfe einer „Biopty-gun“ beschrieben worden.

Tab. 23: Literaturübersicht weltweit publizierter Fälle zur Tumorzellaussat nach Nierentumorbiopsie

Quelle	Jahr	Intervall (Monate)	Aspirationsbiopsie
Gibbons et al. 1977	1977	60	+
Auvert et al. 1982	1982	84	+
Wehle et al. 1986	1986	48	+
Kiser et al. 1986	1986	1	+
Shenoy et al. 1991	1991	12	+
Abe et al. 1992	1992	30	+
Slywoczky et al. 1994	1994	8	+

Aufgrund der beschriebenen Stichkanalmetastasen und diagnostischen Defiziten bei Anwendung der Saugbiopsie (siehe Seite 81-82 und 73-74) sollte diese zugunsten der Stanzbiopsie verlassen werden.

Anhand der Literaturdaten und unserer eigenen Daten das Risiko bzw. das Nebenwirkungsspektrum einer Nierentumorbiopsie ist insgesamt als gering einzuschätzen. Weltweit sind keine Fälle von Kanalmetastasen nach Stanzbiopsie von Nierentumoren beschrieben worden. Aus diesen Ergebnissen lässt sich ableiten, dass die ultraschallgestützte Nierentumorbiopsie ein relativ sicheres Verfahren zur Diagnosestellung bei unklaren renalen Raumforderungen darstellt. Es ist daher zukünftig nicht mehr vertretbar, diesen Patienten eine Tumorbiopsie zu verwehren und stattdessen sofort partiell oder radikal zu operieren. Auch vor dem Hintergrund einer möglichen Tumorzellverschleppung, von der äußerst selten in der Literatur berichtet wird, ist dieser Ansatz primär zu vertreten. Aufgrund dieser Ergebnisse sollte zukünftig bei unklaren Raumforderungen der Niere eine Biopsie empfohlen werden.

7 Schlussfolgerungen

Eine genaue Subtypisierung des Nierenzellkarzinoms ist für die Definition von Prognoseparametern und zur Therapiewahl von großer Bedeutung. Es existieren keine sicheren Unterscheidungskriterien zwischen Nierenzellkarzinom, Adenom und Onkozytom in den bildgebenden Methoden. Die einzige Möglichkeit, die Dignität von Nierentumoren präoperativ festzustellen, besteht in einer Nierentumorbiopsie. Die diagnostische Exaktheit und das Risikenspektrum der Nierentumorbiopsie wurden in der Vergangenheit teilweise kontrovers diskutiert. Aufgrund der ausgeprägten morphologischen Heterogenität der Nierenzelltumore ist eine eindeutige Identifikation der Tumorentitäten im Biopat nach zytologischen und histologischen Kriterien oft sehr schwierig.

In unserer Arbeit stellte sich bei der retrospektiven Untersuchung der histopathologischen Befunde ein hoher Nekroseanteil in zentralen Tumorarealen mit steigender Tendenz bei zunehmender Tumorgroße dar. Zusätzlich beobachtete man eine Zunahme der Nekrosen in der peripheren Tumorzone. Aufgrund dieser Ergebnisse sollte ausschließlich die periphere Nierentumorbiopsie durchgeführt werden.

Die Entnahme von zwei Biopsien pro Fall erbrachte in unserer Studie eine höhere diagnostische Sicherheit. Aufgrund dessen wird die Entnahme von zwei Biopsien generell empfohlen.

Es zeigte sich eine sehr hohe diagnostische Sicherheit der histopathologischen Untersuchung am Biopsiepräparat mit einer Sensitivitätsrate von 90% und einer Spezifitätsrate von 100%. Ursachen sind dafür im Vergleich zur Vergangenheit sowohl verbesserte Ultraschalltechnik als auch Punktionstechnik (Biopsiegerät, side-cutting Nadel). Zusammenfassend kann man einschätzen, dass die histopathologische Untersuchung zur Diagnosestellung am Biopsiepräparat sicher ist.

Die genetische Untersuchung mittels M-FISH erwies sich als hochsensitive und spezifische Methode. Die Multi-Color-Fluoreszenz-In-situ-Hybridisierung erhöht die diagnostische Sicherheit am Biopsiematerial und stellt daher eine sinnvolle Ergänzung der histopathologischen Dignitätsklärung dar.

Die oben aufgeführten Ergebnisse beweisen, dass das eingesetzte Handling (hochauflösende Sonographie, gezielte Tumorpunktion und Benutzung der Biopsiegeräte zur Stanzbiopsie) in der Lage ist, das repräsentative Tumormaterial zu gewinnen. Die Risiken einer Nierentumorbiopsie sind insgesamt als gering einzuschätzen. In unserer Studie und weltweit

sind keine Fälle von Kanalmetastasen nach Stanzbiopsie von Nierentumoren beschrieben worden.

Die Nierentumorbiopsie gewinnt daher einen neuen diagnostischen und gesundheitsökonomischen Stellenwert in der Urologie. Die Verwendung der Biopsie bei entsprechender klinischer Indikation führt sowohl zur Reduzierung der Invasivität in der Nierentumorchirurgie als auch zur Kostenreduzierung im Gesundheitswesen.

Zukünftig sollte Patienten mit unklaren Raumforderungen an der Niere die Biopsie zur Überprüfung der Notwendigkeit einer operativen Therapie angeboten werden. Dabei kann die M-FISH zur Sicherung der Diagnose in der Routinediagnostik eingesetzt werden.

Als Fazit für die Praxis lassen sich folgende Empfehlungen bei der Stellung der Indikation und Durchführung der präoperativen ultraschallgestützten Nierentumorbiopsie zusammenfassen:

1. Auf eine strenge Indikationsstellung bzw. Patientenselektion sollte geachtet werden.
2. Der Nierentumor muss sonographisch sicher darstellbar sein.
3. Eine ausreichende Compliance der Patienten sollte vorliegen (Atmung).
4. Eine gezielte Biopsie ins periphere Tumorgebiet ist einer zentralen Biopsie vorzuziehen.
5. Es sollten wenigstens zwei Biopate gewonnen werden.
6. Zur Durchführung der Biopsie empfehlen wir eine 18-Gauge Nadel und die Verwendung eines Biopsiegerätes.
7. Im Falle von multilokulären Raumforderungen an der Niere muss jede getrennt biopsiert werden.
8. Die histopathologische Untersuchung sollte durch eine genetische Analyse zur Diagnosesicherung ergänzt werden.

8 Literaturverzeichnis

1. Andreeff M., Pinkel D. 1999. Introduction to fluorescence in situ hybridization. Wiley-Liss, 3-4
2. Abe, M., and Saitoh, M. 1992. Selective renal tumour biopsy under ultrasonic guidance. *Br J Urol* **70**, 7-11.
3. Ahmed, A. M., Anees, M., Riaz, A., and Mueed, S. 2003. Percutaneous renal biopsy by automated biopsy gun. *J Coll Physicians Surg Pak* **13**, 263-6.
4. Amin, M. B., Corless, C. L., Renshaw, A. A., Tickoo, S. K., Kubus, J., and Schultz, D. S. 1997. Papillary (chromophil) renal cell carcinoma: histomorphologic characteristics and evaluation of conventional pathologic prognostic parameters in 62 cases. *Am J Surg Pathol* **21**, 621-35.
5. Amin, M. B., Tickoo, S. K., Crotty, T. B., and Farrow, G. M. 1998. Concurrent renal oncocytoma and renal cell carcinoma within the same kidney: diagnostic implications. *Am J Surg Pathol* **22**, 510.
6. Asal, N. R., Geyer, J. R., Risser, D. R., Lee, E. T., Kadamani, S., and Cherng, N. 1988a. Risk factors in renal cell carcinoma. II. Medical history, occupation, multivariate analysis, and conclusions. *Cancer Detect Prev* **13**, 263-79.
7. Asal, N. R., Risser, D. R., Kadamani, S., Geyer, J. R., Lee, E. T., and Cherng, N. 1988b. Risk factors in renal cell carcinoma: I. Methodology, demographics, tobacco, beverage use, and obesity. *Cancer Detect Prev* **11**, 359-77.
8. Aslaksen, A., Halvorsen, O. J., and Gothlin, J. H. 1990. Detection of renal and renal pelvictumours with urography and ultrasonography. *Eur J Radiol* **11**, 54-8.
9. Al Mustafa, M. 2005. Pathohistologische und cytogenetische Auswertung der Nierentumorbiopsie [Dissertation]. Jena: Friedrich-Schiller-Universität.
10. Auperin, A., Benhamou, S., Ory-Paoletti, C., and Flamant, R. 1994. Occupational risk factors for renal cell carcinoma: a case-control study. *Occup Environ Med* **51**, 426-8.
11. Auvert, J., Abbou, C. C., and Lavarenne, V. 1982. Needle tract seeding following puncture of renal oncocytoma. *Prog Clin Biol Res* **100**, 597-8.
12. Bach, D., Wirth, C., Schott, G., Hollenbeck, M., and Grabensee, B. 1999. Percutaneous renal biopsy: three years of experience with the biopty gun in 761 cases--a survey of results and complications. *Int Urol Nephrol* **31**, 15-22.

13. Barriol, D., Lechevallier, E., Andre, M., Daniel, L., Ortega, J. C., Rossi, D., and Coulange, C. 2000. CT-guided percutaneous fine needle biopsy of solid tumors of the kidney. *Prog Urol* **10**, 1145-51.
14. Barocas, D., Mathew, S., Delpizzo, J., Vaughan, E., Gurevich, R., Akhtar, M., Scherr, D. 2006. Renal cell carcinoma sub-typing by histopathology and fluorescence in-situ hybridization on a needle biopsy specimen. *American Urological Association Annual Meeting*, May 20-25, Publishing-714.
15. Bassett, J., Cannon, G., Dhir, R., Hrebniro, R., Franks, M., Pittsburgh, P. 2006. Fluorescence in situ hybridization altering the pathologic diagnosis of renal masses. *American Urological Association Annual Meeting*, May 20-25, Publishing-728.
16. Benhamou, S., Lenfant, M. H., Ory-Paoletti, C., and Flamant, R. 1993. Risk factors for renal-cell carcinoma in a French case-control study. *Int J Cancer* **55**, 32-6.
17. Brauch, H., Weirich, G., Brieger, J., Glavac, D., Rodl, H., Eichinger, M., Feurer, M., Weidt, E., Puranakanitstha, C., Neuhaus, C., Pomer, S., Brenner, W., Schirmacher, P., Storkel, S., Rotter, M., Masera, A., Gugeler, N., and Decker, H. J. 2000. VHL alterations in human clear cell renal cell carcinoma: association with advanced tumor stage and a novel hot spot mutation. *Cancer Res* **60**, 1942-8.
18. Brierly, R. D., Thomas, P. J., Harrison, N. W., Fletcher, M. S., Nawrocki, J. D., and Ashton-Key, M. 2000. Evaluation of fine-needle aspiration cytology for renal masses. *BJU Int* **85**, 14-8.
19. Brown, J. A., Takahashi, S., Alcaraz, A., Borell, T. J., Anderl, K. L., Qian, J., Persons, D. L., Bostwick, D. G., Lieber, M. M., and Jenkins, R. B. 1996. Fluorescence in situ hybridization analysis of renal oncocytoma reveals frequent loss of chromosomes Y and 1. *J Urol* **156**, 31-5.
20. Buentig, N., Storkel, S., and Atzpodien, J. 2002. Molecular genetic changes in renal cell carcinomas. *Urologe A* **41**, 475-81.
21. Burstein, D. M., Korbet, S. M., and Schwartz, M. M. 1993. The use of the automatic core biopsy system in percutaneous renal biopsies: a comparative study. *Am J Kidney Dis* **22**, 545-52.
22. Caoili, E. M., Bude, R. O., Higgins, E. J., Hoff, D. L., and Nghiem, H. V. 2002. Evaluation of sonographically guided percutaneous core biopsy of renal masses. *AJR Am J Roentgenol* **179**, 373-8.
23. Cheville, J. C., Lohse, C. M., Zincke, H., Weaver, A. L., and Blute, M. L. 2003.

- Comparisons of outcome and prognostic features among histologic subtypes of renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol* **27**, 612-24.
24. Chow, W. H., McLaughlin, J. K., Mandel, J. S., Wacholder, S., Niwa, S., and Fraumeni, J. F., Jr. 1996. Obesity and risk of renal cell cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **5**, 17-21.
 25. Chudek, J., Wilhelm, M., Bugert, P., Herbers, J., and Kovacs, G. 1997. Detailed microsatellite analysis of chromosome 3p region in non-papillary renal cell carcinomas. *Int J Cancer* **73**, 225-9.
 26. Cohen, A. J., Li, F. P., Berg, S., Marchetto, D. J., Tsai, S., Jacobs, S. C., and Brown, R. S. 1979. Hereditary renal-cell carcinoma associated with a chromosomal translocation. *N Engl J Med* **301**, 592-5.
 27. Cozens, N. J., Murchison, J. T., Allan, P. L., and Winney, R. J. 1992. Conventional 15 G needle technique for renal biopsy compared with ultrasound-guided spring-loaded 18 G needle biopsy. *Br J Radiol* **65**, 594-7.
 28. Decker, H. J., Neuhaus, C., Jauch, A., Speicher, M., Ried, T., Bujard, M., Brauch, H., Storkel, S., Stockle, M., Seliger, B., and Huber, C. 1996. Detection of a germline mutation and somatic homozygous loss of the von Hippel-Lindau tumor-suppressor gene in a family with a de novo mutation. A combined genetic study, including cytogenetics, PCR/SSCP, FISH, and CGH. *Hum Genet* **97**, 770-6.
 29. Decker, H. J. 2002. Nierenzellkarzinome. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg
 30. Dhote, R., Pellicer-Coeuret, M., Thiounn, N., Debre, B., and Vidal-Trecan, G. 2000. Risk factors for adult renal cell carcinoma: a systematic review and implications for prevention. *BJU Int* **86**, 20-7.
 31. Engel, U., and Horn, T. 1991. Eosinophilic renal cell tumours. A study on tumour heterogeneity with special emphasis on oncocytes. *Scand J Urol Nephrol* **25**, 297-301.
 32. Fischer, C. G. 1999. Etiology, pathogenesis and therapy of renal cell carcinoma. *Radiologe* **39**, 343-9.
 33. Frank, I., Blute, M. L., Cheville, J. C., Lohse, C. M., Weaver, A. L., and Zincke, H. 2003. Solid renal tumors: an analysis of pathological features related to tumor size. *J Urol* **170**, 2217-20.
 34. Gettman, M. T., and Blute, M. L. 2002. Update on pathologic staging of renal cell carcinoma. *Urology* **60**, 209-17.

35. Gibbons, R. P., Bush, W. H., Jr., and Burnett, L. L. 1977. Needle tract seeding following aspiration of renal cell carcinoma. *J Urol* **118**, 865-7.
36. Goethuys, H., Van Poppel, H., Oyen, R., and Baert, L. 1996. The case against fine-needle aspiration cytology for small solid kidney tumors. *Eur Urol* **29**, 284-7.
37. Gunawan, B., Bergmann, F., Braun, S., Hemmerlein, B., Ringert, R. H., Jakse, G., and Fuzesi, L. 1999. Polyploidization and losses of chromosomes 1, 2, 6, 10, 13, and 17 in three cases of chromophobe renal cell carcinomas. *Cancer Genet Cytogenet* **110**, 57-61.
38. Gunia, S., May, M., Korb, K., and Stosiek, P. 2004. Renal cell carcinoma. Comparative analysis of the prognostic significance of the WHO-classification and the Storkel's prognostic score. *Urologe A* **43**, 450-6.
39. Handa, K., and Kreiger, N. 2002. Diet patterns and the risk of renal cell carcinoma. *Public Health Nutr* **5**, 757-67.
40. Hara, I., Miyake, H., Hara, S., Arakawa, S., Hanioka, K., and Kamidono, S. 2001. Role of percutaneous image-guided biopsy in the evaluation of renal masses. *Urol Int* **67**, 199-202.
41. Helm, C. W., Burwood, R. J., Harrison, N. W., and Melcher, D. H. 1983. Aspiration cytology of solid renal tumours. *Br J Urol* **55**, 249-53.
42. Hergesell, O., Felten, H., Andrassy, K., Kuhn, K., and Ritz, E. 1998. Safety of ultrasound-guided percutaneous renal biopsy-retrospective analysis of 1090 consecutive cases. *Nephrol Dial Transplant* **13**, 975-7.
43. Herring, J. C., Enquist, E. G., Chernoff, A., Linehan, W. M., Choyke, P. L., and Walther, M. M. 2001. Parenchymal sparing surgery in patients with hereditary renal cell carcinoma: 10-year experience. *J Urol* **165**, 777-81.
44. Herts, B. R., and Baker, M. E. 1995. The current role of percutaneous biopsy in the evaluation of renal masses. *Semin Urol Oncol* **13**, 254-61.
45. Imaide, Y., and Saitoh, M. 1995. Clinical implication of selective renal tumor biopsy. *Hinyokika Kiyo* **41**, 745-52.
46. Iqbal, M. A., Akhtar, M., Ulmer, C., Al-Dayel, F., and Paterson, M. C. 2000. FISH analysis in chromophobe renal-cell carcinoma. *Diagn Cytopathol* **22**, 3-6.
47. Jiang, F., Richter, J., Schraml, P., Bubendorf, L., Gasser, T., Sauter, G., Mihatsch, M. J., and Moch, H. 1998. Chromosomal imbalances in papillary renal cell carcinoma: genetic differences between histological subtypes. *Am J Pathol* **153**,

1467-73.

48. Jocham D., Miller, K. 1994. Praxis der Urologie , Georg Thieme Verlag , Band II, 12.
49. Junker, K. 2003. Molecular diagnostics of renal diseases with underlying genetic predisposition. *Urologe A* **42**, 624-33.
50. Junker, K., Weirich, G., Amin, M. B., Moravek, P., Hindermann, W., and Schubert, J. 2003. Genetic subtyping of renal cell carcinoma by comparative genomic hybridization. *Recent Results Cancer Res* **162**, 169-75.
51. Junker, K., Weirich, G., Moravek, P., Podhola, M., Ilse, B., Hartmann, A., and Schubert, J. 2001. Familial and sporadic renal oncocytomas--a comparative molecular-genetic analysis. *Eur Urol* **40**, 330-6.
52. Kälble, T., Kovacs, G. 1994. Molecular genetics in the diagnosis and prognosis of renal cell carcinoma. *Klin Labor*; **12**:1209-14
53. Karhu, R., Rummukainen, J., Lorch, T., and Isola, J. 1999. Four-color CGH: a new method for quality control of comparative genomic hybridization. *Genes Chromosomes Cancer* **24**, 112-8.
54. Kiser, G. C., Totonchy, M., and Barry, J. M. 1986. Needle tract seeding after percutaneous renal adenocarcinoma aspiration. *J Urol* **136**, 1292-3.
55. Koller, A., Kain, R., Haitel, A., Mazal, P. R., Asboth, F., and Susani, M. 2000. Renal oncocytoma with prominent intracytoplasmic vacuoles of mitochondrial origin. *Histopathology* **37**, 264-8.
56. Kovacs, G. 1993a. Molecular cytogenetics of renal cell tumors. *Adv Cancer Res* **62**, 89-124.
57. Kovacs, G. 1993b. Molecular differential pathology of renal cell tumours. *Histopathology* **22**, 1-8.
58. Kovacs, G. 1999. Molecular genetics and diagnosis of renal cell tumors. *Urologe A* **38**, 433-41.
59. Kovacs, G. 1994. The value of molecular genetic analysis in the diagnosis and prognosis of renal cell tumours. *World J Urol* **12**, 64-8.
60. Kristensen, J. K., Holm, H. H., Rasmussen, S. N., and Barlebo, H. 1972. Ultrasonically guided percutaneous puncture of renal masses. *Scand J Urol Nephrol* **6**, Suppl 15:49-56.
61. Kuefer, R., Autenrieth, M., Herkommer, K., Blum, P., Merseburger, A., Hofer, M.,

- Rinnab, L., Gschwend, J., and Ringhoffer, M. 2006. Translational research in renal cell cancer Illustrated by the example of the vascular endothelial growth factor pathway. *Urologe A* **45**, 328-35.
62. Latif, F., Tory, K., Gnarr, J., Yao, M., Duh, F. M., Orcutt, M. L., Stackhouse, T., Kuzmin, I., Modi, W., Geil, L., and et al. 1993. Identification of the von Hippel-Lindau disease tumor suppressor gene. *Science* **260**, 1317-20.
 63. Lechevallier, E., Andre, M., Barriol, D., Daniel, L., Eghazarian, C., De Fromont, M., Rossi, D., and Coulange, C. 2000. Fine-needle percutaneous biopsy of renal masses with helical CT guidance. *Radiology* **216**, 506-10.
 64. Lense, E., Siegel, R., Hewan-Lowe, K., and Costa, M. J. 1991. In situ oncocyctic change in association with multiple renal cell adenocarcinomas. *Arch Pathol Lab Med* **115**, 1067-9.
 65. Linehan, W. M., Gnarr, J. R., Lerman, M. I., Latif, F., and Zbar, B. 1993. Genetic basis of renal cell cancer. *Important Adv Oncol*, 47-70.
 66. Linehan, W. M., Walther, M. M., and Zbar, B. 2003a. The genetic basis of cancer of the kidney. *J Urol* **170**, 2163-72.
 67. Linehan, W. M. 2003b. Molecular targeting of VHL gene pathway in clear cell kidney cancer. *J Urol* **170**, 593-4.
 68. Lottspeich F. , Zorbas H. 1998. Bioanalytik. Heidelberg, Berlin: Spektrum, Akad. Verlag, 830-837
 69. Maher, E. R., Iselius, L., Yates, J. R., Littler, M., Benjamin, C., Harris, R., Sampson, J., Williams, A., Ferguson-Smith, M. A., and Morton, N. 1991a. Von Hippel-Lindau disease: a genetic study. *J Med Genet* **28**, 443-7.
 70. Maher, E. R., and Yates, J. R. 1991b. Familial renal cell carcinoma: clinical and molecular genetic aspects. *Br J Cancer* **63**, 176-9.
 71. Mahoney, M. C., Racadio, J. M., Merhar, G. L., and First, M. R. 1993. Safety and efficacy of kidney transplant biopsy: Tru-Cut needle vs sonographically guided Biopsy gun. *AJR Am J Roentgenol* **160**, 325-6.
 72. Meola, M., Barsotti, G., Cupisti, A., Buoncristiani, E., and Giovannetti, S. 1994. Free-hand ultrasound-guided renal biopsy: report of 650 consecutive cases. *Nephron* **67**, 425-30.
 73. Mertz, K. D., Tchinda, J., Kufer, R., Moller, P., Rubin, M. A., Moch, H., and Perner, S. 2006. [Cytogenetic alterations in renal tumors Applications for

- comparative genomic hybridization and fluorescence in situ hybridization.]. *Urologe A* **45**, 316-322.
74. Mignon, F., Mesurolle, B., Ariche-Cohen, M., and Vanel, D. 2001. Value of CT guided renal biopsies: retrospective review of 67 cases. *J Radiol* **82**, 907-11.
 75. Murphy, W. M., Zambroni, B. R., Emerson, L. D., Moinuddin, S., and Lee, L. H. 1985. Aspiration biopsy of the kidney. Simultaneous collection of cytologic and histologic specimens. *Cancer* **56**, 200-5.
 76. Murphy, W. M., Grignon, D.J., Perlmann, E. J. 2004. Tumours of the Kidney, Bladder and Related Urinary Structures. AFIP Atlas of Tumor Patholog, **4**, 164-88.
 77. Nadel, L., Baumgartner, B. R., and Bernardino, M. E. 1986. Percutaneous renal biopsies: accuracy, safety, and indications. *Urol Radiol* **8**, 67-71.
 78. Nagy, A., Buzogany, I., and Kovacs, G. 2004. Microsatellite allelotyping differentiates chromophobe renal cell carcinomas from renal oncocytomas and identifies new genetic changes. *Histopathology* **44**, 542-6.
 79. Neumann, H. P., Bender, B. U., Berger, D. P., Laubenberger, J., Schultze-Seemann, W., Wetterauer, U., Ferstl, F. J., Herbst, E. W., Schwarzkopf, G., Hes, F. J., Lips, C. J., Lamiell, J. M., Masek, O., Riegler, P., Mueller, B., Glavac, D., and Brauch, H. 1998. Prevalence, morphology and biology of renal cell carcinoma in von Hippel-Lindau disease compared to sporadic renal cell carcinoma. *J Urol* **160**, 1248-54.
 80. Neuzillet, Y., Lechevallier, E., Andre, M., Daniel, L., and Coulange, C. 2004. Accuracy and clinical role of fine needle percutaneous biopsy with computerized tomography guidance of small (less than 4.0 cm) renal masses. *J Urol* **171**, 1802-5.
 81. Neuzillet, Y., Lechevallier, E., Andre, M., Daniel, L., Nahon, O., and Coulange, C. 2005. Follow-up of renal oncocytoma diagnosed by percutaneous tumor biopsy. *Urology* **66**, 1181-5.
 82. Niceforo, J., and Coughlin, B. F. 1993. Diagnosis of renal cell carcinoma: value of fine-needle aspiration cytology in patients with metastases or contraindications to nephrectomy. *AJR Am J Roentgenol* **161**, 1303-5.
 83. Nickerson, M. L., Warren, M. B., Toro, J. R., Matrosova, V., Glenn, G., Turner, M. L., Duray, P., Merino, M., Choyke, P., Pavlovich, C. P., Sharma, N., Walther, M., Munroe, D., Hill, R., Maher, E., Greenberg, C., Lerman, M. I., Linehan, W. M., Zbar, B., and Schmidt, L. S. 2002. Mutations in a novel gene lead to kidney tumors,

- lung wall defects, and benign tumors of the hair follicle in patients with the Birt-Hogg-Dube syndrome. *Cancer Cell* **2**, 157-64.
84. Nogueira, E., and Bannasch, P. 1988. Cellular origin of rat renal oncocytoma. *Lab Invest* **59**, 337-43.
 85. Ohmori, H., Arimoto, K., Taki, M., Kosaka, K., Kumon, H., and Ohmori, H. 1990. A new automated renal biopsy technique under ultrasound guidance. *Nippon Jinzo Gakkai Shi* **32**, 409-14.
 86. Ori, Y., Neuman, H., Chagnac, A., Siegal, A., Tobar, A., Itkin, M., Gafter, U., and Korzets, A. 2002. Using the automated biopsy gun with real-time ultrasound for native renal biopsy. *Isr Med Assoc J* **4**, 698-701.
 87. Pack, S. D., Zbar, B., Pak, E., Ault, D. O., Humphrey, J. S., Pham, T., Hurley, K., Weil, R. J., Park, W. S., Kuzmin, I., Stolle, C., Glenn, G., Liotta, L. A., Lerman, M. I., Klausner, R. D., Linehan, W. M., and Zhuang, Z. 1999. Constitutional von Hippel-Lindau (VHL) gene deletions detected in VHL families by fluorescence in situ hybridization. *Cancer Res* **59**, 5560-4.
 88. Parrish, A. E. 1992. Complications of percutaneous renal biopsy: a review of 37 years' experience. *Clin Nephrol* **38**, 135-41.
 89. Pathak, S., Strong, L. C., Ferrell, R. E., and Trindade, A. 1982. Familial renal cell carcinoma with a 3;11 chromosome translocation limited to tumor cells. *Science* **217**, 939-41.
 90. Pavlovich, C. P., Walther, M. M., Eyler, R. A., Hewitt, S. M., Zbar, B., Linehan, W. M., and Merino, M. J. 2002. Renal tumors in the Birt-Hogg-Dube syndrome. *Am J Surg Pathol* **26**, 1542-52.
 91. Phillips, J. L., Ghadimi, B. M., Wangsa, D., Padilla-Nash, H., Worrell, R., Hewitt, S., Walther, M., Linehan, W. M., Klausner, R. D., and Ried, T. 2001a. Molecular cytogenetic characterization of early and late renal cell carcinomas in von Hippel-Lindau disease. *Genes Chromosomes Cancer* **31**, 1-9.
 92. Phillips, J. L., Pavlovich, C. P., Walther, M., Ried, T., and Linehan, W. M. 2001b. The genetic basis of renal epithelial tumors: advances in research and its impact on prognosis and therapy. *Curr Opin Urol* **11**, 463-9.
 93. Preda, A., Van Dijk, L. C., Van Oostaijen, J. A., and Pattynama, P. M. 2003. Complication rate and diagnostic yield of 515 consecutive ultrasound-guided biopsies of renal allografts and native kidneys using a 14-gauge Biopty gun. *Eur*

Radiol **13**, 527-30.

94. Presti, J. C., Jr., Moch, H., Gelb, A. B., Huynh, D., and Waldman, F. M. 1998. Initiating genetic events in small renal neoplasms detected by comparative genomic hybridization. *J Urol* **160**, 1557-61.
95. Presti, J. C., Jr., Moch, H., Reuter, V. E., Huynh, D., and Waldman, F. M. 1996. Comparative genomic hybridization for genetic analysis of renal oncocytomas. *Genes Chromosomes Cancer* **17**, 199-204.
96. Receveur, A. O., Couturier, J., Molinie, V., Vieillefond, A., Desangles, F., Guillaud-Bataille, M., Danglot, G., Coullin, P., and Bernheim, A. 2005. Characterization of quantitative chromosomal abnormalities in renal cell carcinomas by interphase four-color fluorescence in situ hybridization. *Cancer Genet Cytogenet* **158**, 110-8.
97. Schwerdtle, R. F., Storkel, S., Neuhaus, C., Brauch, H., Weidt, E., Brenner, W., Hohenfellner, R., Huber, C., and Decker, H. J. 1996. Allelic losses at chromosomes 1p, 2p, 6p, 10p, 13q, 17p, and 21q significantly correlate with the chromophobe subtype of renal cell carcinoma. *Cancer Res* **56**, 2927-30.
98. Staehler G., Pomer S. 1997. Nierentumoren. Springer Verlag Berlin-Heidelberg, 7-8
99. Schmidt, L., Duh, F. M., Chen, F., Kishida, T., Glenn, G., Choyke, P., Scherer, S. W., Zhuang, Z., Lubensky, I., Dean, M., Allikmets, R., Chidambaram, A., Bergerheim, U. R., Feltis, J. T., Casadevall, C., Zamarron, A., Bernues, M., Richard, S., Lips, C. J., Walther, M. M., Tsui, L. C., Geil, L., Orcutt, M. L., Stackhouse, T., Lipan, J., Slife, L., Brauch, H., Decker, J., Niehans, G., Hughson, M. D., Moch, H., Storkel, S., Lerman, M. I., Linehan, W. M., and Zbar, B. 1997. Germline and somatic mutations in the tyrosine kinase domain of the MET proto-oncogene in papillary renal carcinomas. *Nat Genet* **16**, 68-73.
100. Schmidt, L. S., Warren, M. B., Nickerson, M. L., Weirich, G., Matrosova, V., Toro, J. R., Turner, M. L., Duray, P., Merino, M., Hewitt, S., Pavlovich, C. P., Glenn, G., Greenberg, C. R., Linehan, W. M., and Zbar, B. 2001. Birt-Hogg-Dube syndrome, a genodermatosis associated with spontaneous pneumothorax and kidney neoplasia, maps to chromosome 17p11.2. *Am J Hum Genet* **69**, 876-82.
101. Seizinger, B. R., Smith, D. I., Filling-Katz, M. R., Neumann, H., Green, J. S.,

- Choyke, P. L., Anderson, K. M., Freiman, R. N., Klauck, S. M., Whaley, J., and et al. 1991. Genetic flanking markers refine diagnostic criteria and provide insights into the genetics of Von Hippel Lindau disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* **88**, 2864-8.
102. Shenoy, P. D., Lakhkar, B. N., Ghosh, M. K., and Patil, U. D. 1991. Cutaneous seeding of renal carcinoma by Chiba needle aspiration biopsy. Case report. *Acta Radiol* **32**, 50-2.
 103. Skinnider, B. F., and Jones, E. C. 1999. Renal oncocytoma and chromophobe renal cell carcinoma. A comparison of colloidal iron staining and electron microscopy. *Am J Clin Pathol* **111**, 796-803.
 104. Slywotzky, C., and Maya, M. 1994. Needle tract seeding of transitional cell carcinoma following fine-needle aspiration of a renal mass. *Abdom Imaging* **19**, 174-6.
 105. Smith, E. H. 1991. Complications of percutaneous abdominal fine-needle biopsy. Review. *Radiology* **178**, 253-8.
 106. Speicher, M. R., Schoell, B., du Manoir, S., Schrock, E., Ried, T., Cremer, T., Storkel, S., Kovacs, A., and Kovacs, G. 1994. Specific loss of chromosomes 1, 2, 6, 10, 13, 17, and 21 in chromophobe renal cell carcinomas revealed by comparative genomic hybridization. *Am J Pathol* **145**, 356-64.
 107. Störkel, S. 1999. Epithelial tumors of the kidney. Pathological subtyping and cytogenetic correlation. *Urologe A* **38**, 425-32.
 108. Störkel, S. 2002. Molecular genetic classification of renal cell carcinoma. *Verh Dtsch Ges Pathol* **86**, 28-39.
 109. Störkel, S., Eble, J. N., Adlakha, K., Amin, M., Blute, M. L., Bostwick, D. G., Darson, M., Delahunt, B., and Iczkowski, K. 1997. Classification of renal cell carcinoma: Workgroup No. 1. Union Internationale Contre le Cancer (UICC) and the American Joint Committee on Cancer (AJCC). *Cancer* **80**, 987-9.
 110. Sanjmyatav, J., Rubtsov, N., Starke, H., Schubert, J., Hindermann, W., and Junker, K. (2005). Identification of tumor entities of renal cell carcinoma using interphase fluorescence in situ hybridization. *J Urol* **174**, 731-5.
 111. Syrjanen, K., and Hjelt, L. 1978. Grading of human renal adenocarcinoma. *Scand J Urol Nephrol* **12**, 49-55.
 112. Talamini, R., Baron, A. E., Barra, S., Bidoli, E., La Vecchia, C., Negri, E.,

- Serraino, D., and Franceschi, S. 1990. A case-control study of risk factor for renal cell cancer in northern Italy. *Cancer Causes Control* **1**, 125-31.
113. Tallada, N., Martinez, S., and Raventos, A. 1994. Cytologic study of renal angiomyolipoma by fine-needle aspiration biopsy: report of four cases. *Diagn Cytopathol* **10**, 37-40.
 114. Thoenes, W., Storkel, S., and Rumpelt, H. J. 1986. Histopathology and classification of renal cell tumors (adenomas, oncocytomas and carcinomas). The basic cytological and histopathological elements and their use for diagnostics. *Pathol Res Pract* **181**, 125-43.
 115. Tickoo, S. K., and Amin, M. B. 1998. Discriminant nuclear features of renal oncocytoma and chromophobe renal cell carcinoma. Analysis of their potential utility in the differential diagnosis. *Am J Clin Pathol* **110**, 782-7.
 116. Toro, J. R., Glenn, G., Duray, P., Darling, T., Weirich, G., Zbar, B., Linehan, M., and Turner, M. L. 1999. Birt-Hogg-Dube syndrome: a novel marker of kidney neoplasia. *Arch Dermatol* **135**, 1195-202.
 117. Tung, K. T., Downes, M. O., and O'Donnell, P. J. 1992. Renal biopsy in diffuse renal disease--experience with a 14-gauge automated biopsy gun. *Clin Radiol* **46**, 111-3.
 118. Velickovic, M., Delahunt, B., and Grebe, S. K. 1999. Loss of heterozygosity at 3p14.2 in clear cell renal cell carcinoma is an early event and is highly localized to the FHIT gene locus. *Cancer Res* **59**, 1323-6.
 119. van den Berg, E., van der Hout, A. H., Oosterhuis, J. W., Storkel, S., Dijkhuizen, T., Dam, A., Zweers, H. M., Mensink, H. J., Buys, C. H., and de Jong, B. 1993. Cytogenetic analysis of epithelial renal-cell tumors: relationship with a new histopathological classification. *Int J Cancer* **55**, 223-7.
 120. van den Berg, A., Dijkhuizen, T., Draaijers, T. G., Hulsbeek, M. M., Maher, E. R., van den Berg, E., Storkel, S., and Buys, C. H. 1997. Analysis of multiple renal cell adenomas and carcinomas suggests allelic loss at 3p21 to be a prerequisite for malignant development. *Genes Chromosomes Cancer* **19**, 228-32.
 121. Vasudevan, A., Davies, R. J., Shannon, B. A., and Cohen, R. J. 2006. Incidental renal tumours: the frequency of benign lesions and the role of preoperative core biopsy. *BJU Int* **97**, 946-9.

122. Wang, N., and Perkins, K. L. 1984. Involvement of band 3p14 in t(3;8) hereditary renal carcinoma. *Cancer Genet Cytogenet* **11**, 479-81.
123. Wehle, M. J., and Grabstald, H. 1986. Contraindications to needle aspiration of a solid renal mass: tumor dissemination by renal needle aspiration. *J Urol* **136**, 446-8.
124. Weirich, G., Glenn, G., Junker, K., Merino, M., Storkel, S., Lubensky, I., Choyke, P., Pack, S., Amin, M., Walther, M. M., Linehan, W. M., and Zbar, B. 1998. Familial renal oncocytoma: clinicopathological study of 5 families. *J Urol* **160**, 335-40.
125. Wood, B. J., Khan, M. A., McGovern, F., Harisinghani, M., Hahn, P. F., and Mueller, P. R. 1999. Imaging guided biopsy of renal masses: indications, accuracy and impact on clinical management. *J Urol* **161**, 1470-4.
126. Wunderlich, H., Hindermann, W., Al Mustafa, A. M., Reichelt, O., Junker, K., and Schubert, J. 2005. The accuracy of 250 fine needle biopsies of renal tumors. *J Urol* **174**, 44-6.
127. Yu, M. C., Mack, T. M., Hanisch, R., Cicioni, C., and Henderson, B. E. 1986. Cigarette smoking, obesity, diuretic use, and coffee consumption as risk factors for renal cell carcinoma. *J Natl Cancer Inst* **77**, 351-6.
128. Zbar, B., Glenn, G., Lubensky, I., Choyke, P., Walther, M. M., Magnusson, G., Bergerheim, U. S., Pettersson, S., Amin, M., and Hurley, K. 1995. Hereditary papillary renal cell carcinoma: clinical studies in 10 families. *J Urol* **153**, 907-12.
129. Zbar, B., Kaelin, W., Maher, E., and Richard, S. 1999. Third International Meeting on von Hippel-Lindau disease. *Cancer Res* **59**, 2251-3.

9 Danksagung

Ich möchte mich herzlichst bei allen bedanken, die an der Entstehung meiner Promotion mitgewirkt haben, insbesondere bei

meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. med. habil. Jörg Schubert, Direktor der Klinik und Poliklinik für Urologie der Friedrich-Schiller-Universität Jena, für die Bereitstellung des Themas sowie die Betreuung der wissenschaftlichen Arbeit.

Frau PD. Dr. med. habil. Kerstin Junker für die umfassende und außerordentlich engagierte Betreuung bei der Durchführung der Forschungstätigkeiten sowie bei der Verfassung des Manuskripts.

Herzlich bedanken möchte ich mich bei Herrn Dr. med. Marco Wolf für die freundschaftliche Unterstützung bei der Erstellung des Manuskripts.

Den Mitarbeitern des Labors der Klinik für Urologie der Friedrich-Schiller-Universität Jena, insbesondere bei Frau Bianca Ilse und Frau Dr. Jimse Sanjmyatav für die freundliche Aufnahme in das Forschungsteam und die Unterstützung bei den experimentellen Arbeiten.

Und natürlich gilt mein Dank ganz besonders Herrn Dr. med. Olaf Reichelt. Er hat mich während aller Phasen der Entstehung dieses Manuskripts ermutigt und in jeder Hinsicht unterstützt.

10 Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: Dr. med. habil. Kerstin Junker, Prof. Dr. med. habil. Jörg Schubert, Bianca Ilse, Dr. med. Olaf Reichelt.

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Jena, den 01.11.2006

Aliaksei Chyhrai

11 Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: Chyhrai
Vorname: Aliaksei
Geburtsdatum: 24.05.1979
Geburtsort: Mogilew/Weißrussland
Eltern: Chyhrai Vladimir, Arzt
Chyhrai Tamara, geb. Kozlowa, Ärztin

Bildungsgang:

1986-1996	Gymnasium N 28 “ Alexander Melnikov” im Mogilew/Weißrussland
1996	Abitur
1997-2003	Studium der Humanmedizin an der Universität Vitebsk/Weißrussland Hochschulabschluss Medizin mit dem Gesamtprädikat “Ausgezeichnet” Arzt-Intern in der Klinik für Chirurgie der Universität Vitebsk/Weißrussland
seit 24.09.2003	Assistenzarzt in der Klinik und Poliklinik für Urologie der Friedrich-Schiller-Universität Jena

Jena, den 01.11.2006

Aliaksei Chyhrai